UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY

# ZEITSCHRIFT

## FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND

# VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET

VON

CH. AUERBACH · H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN
G. MELCHERS · F. OEHLKERS · K. PÄTAU · H. STUBBE

86. BAND 2. HEFT

MIT 42 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 14. OKTOBER 1954)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

SPRINGER-VERLAG

1954

Z. Vererbungslehre

Preis DM 26.80

# Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre.

Begründet 1908. Herausgegeben von C. Correns, V. Haecker, G. Steinmann, R. v. Wettstein, Erwin Baur u. a. Band 1—81 (1944) Berlin, Gebr. Borntträger, ab Band 82 (1948) Berlin, Springer.


---

Die **„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskripte sind *unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung* an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

*Dr. Charlotte Auerbach, Institute of Animal Genetics, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh/Schottland,*

*Professor Dr. Hans Bauer, Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,*

*Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,*

*Professor Dr. Alfred Kühn, Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, Spemannstraße 34,*

*Professor Dr. Georg Melchers, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 41,*

*Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9—11,*

*Professor Dr. Klaus Pätau, Department of Botany, Biology Building, University of Wisconsin, Madison 6 Wis. USA.,*

*Professor Dr. Hans Stubbe, Gatersleben (Bezirk Halle), Institut für Kulturpflanzenforschung.*

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Bei den Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

*Professor Dr. Georg Melchers,* (14b) *Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 41,*

alle die Zeitschrift betreffenden *geschäftlichen* Mitteilungen an den

*Springer-Verlag,* (17a) *Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24,*

zu senden.


**Die geschäftsführenden Herausgeber:**

*G. Melchers*
*H. Stubbe*

**Berlin W 35**
Reichpietschufer 20
Fernsprecher: 249251

---

**Vertriebsvertretung im Ausland:**

**Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1**


---

*Inhaltsverzeichnis auf Seite 3*

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 86, S. 157—172 (1954).

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Abteilung für Pflanzenbau und Züchtungsbiologie, Neuhof bei Gießen.

# DAS AUFTRETEN KETTENFÖRMIGER CHROMOSOMENVERBÄNDE IN DER MEIOSIS VERSCHIEDENER *PHYSALIS*-ARTEN.

Von

WERNER GOTTSCHALK.

Mit 9 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 7. Mai 1954.)*

## Gliederung.

Seite

A. Einleitung . . . . . 157
B. Material und Methode . . . . . 158
C. *Empirischer Teil:*
1. Die zytologischen Verhältnisse in der Diakinese verschiedener Arten der Gattung *Physalis* . . . . . 158
2. Pollensterilität und Samenansatz . . . . . 164
D. *Theoretischer Teil:*
1. Der Konfigurationstypus von *Physalis alkekengi* und *Physalis franchetii* . . . 165
2. Die Ursachen der Pollensterilität . . . . . 169
Zusammenfassung . . . . . 171
Literatur . . . . . 172

## A. Einleitung.

In der zytologischen Literatur sind nur wenige Fälle beschrieben worden, in denen Chromosomenmutationen als Faktoren der Artbildung innerhalb einer Gattung wirksam gewesen sind. Sie wurden bisher in etwa 20 Gattungen nachgewiesen, darunter den Genera *Campanula*, *Paeonia*, *Pisum*, *Rhoeo* und *Tradescantia*. Besonders häufig traten sie in der Gattung *Oenothera* auf und haben dort eine umfassende Bearbeitung erfahren. Dabei ist das Oenotherenproblem zunächst von der genetischen Seite her angegriffen worden. Am Beginn stand das von RENNER (1914—1917) geklärte Phänomen konstanter „Komplexheterozygotie" der meisten spontanen Formen. Daraus hergestellte artifizielle Bastarde zeigten jedoch ein unterschiedliches Verhalten: bald weitgehende Spaltung in ihren Nachkommen, bald die gleiche Konstanz wie die Ausgangsformen. Spalten und Nichtspalten aber wurden von OEHLKERS (1926) sowie CLELAND und OEHLKERS (1930) mit dem unterschiedlichen Verkettungsgrad der Chromosomen in den einzelnen Bastarden in Zusammenhang gebracht. Aus den verketteten Chromosomen spalten die darauf lokalisierten Erbanlagen als seien sie gekoppelt, aus den Bivalenten hingegen als seien sie frei. Als Ursache für das Zustandekommen solcher Verkettungen wurde von BELLING und BLAKESLEE (1926) für *Datura* ein Stückaustausch zwischen nichthomologen Chromosomen, das Bestehen verschiedener „Translokationen" in den einzelnen Ausgangstypen von Bastarden, aufgewiesen. Die Übertragung dieser „Translokationshypothese", insbesondere durch CLELAND und BLAKESLEE (1931), führte in ihrer weiteren eingehenden Ausarbeitung, vor allem auch durch RENNER selbst, zur völligen Aufklärung der

komplizierten zytogenetischen Verhältnisse unter den Arten zunächst der *biennis*-Gruppe bei *Oenothera*. Auch auf die Sektion *Raimannia* findet sie, wie HAUSTEIN (1952) zeigte, gleicherweise Anwendung. Näheres kann für die *biennis*-Gruppe aus zwei übersichtlichen Darstellungen von SCHIEMANN (1933) und RENNER (1946) entnommen werden.

Eine charakteristische Eigenschaft der Gattung *Oenothera* ist die relativ hohe Stabilität ihrer zytologischen Verhältnisse. Die bei den verschiedenen Arten der Gattung theoretisch zu erwartenden Konfigurationstypen werden unter normalen Lebensbedingungen weitgehend in allen meiotischen Stadien realisiert. Es besteht höchstens die Möglichkeit, daß eine Figur durch Ausfall eines Chiasmas nicht als Ring, sondern als Kette in Erscheinung tritt. Ein weiterer Abbau der mehrchromosomigen Verbände kommt selten zustande. Bei einigen Arten der Gattung *Physalis* treten in der meiotischen Prophase ebenfalls kettenförmige Konfigurationen auf, die sich jedoch durch eine auffallende Instabilität auszeichnen und die in den vorliegenden Untersuchungen näher bearbeitet worden sind.

## B. Material und Methode.

Es wurden zytologische Untersuchungen an den Species *Physalis alkekengi*, *Ph. angulata*, *Ph. floridana*, *Ph. franchetii*, *Ph. lancifolia*, *Ph. ixocarpa*, *Ph. peruviana*, *Ph. philadelphica* und *Ph. pubescens* vorgenommen. Von den Objekten wurden die Antheren junger Blütenknospen in Carnoy 3:1 fixiert, mit Eisessig-Karmin unter Eisenzusatz nach GEITLER (1949) gefärbt und als Quetschpräparate verarbeitet. Zur Untersuchung gelangten mittlere Stadien der meiotischen Prophase, vornehmlich Diakinesen. Alle bearbeiteten Arten wurden im Freiland unter normalen Feldbedingungen kultiviert.

Optik: Winkel-Zeiss-Standardmikroskop, Ölimmersion 100fach, Okulare 8- und 12,5fach. Die Mikrophotographien wurden mit der Aufsatzkamera von Winkel-Zeiss hergestellt.

## C. Empirischer Teil.

Die zytologische Analyse von Translokationsfiguren der Chromosomen in der Meiosis wird meist im Stadium der Diakinese vorgenommen, weil die Pachytänkerne vielfach zu stark verknäuelt sind, um eine einigermaßen vollständige Übersicht zu gewähren. Das gilt auch für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten *Physalis*-Arten, bei denen selbst in der Diakinese nur selten übersichtliche, vollständig analysierbare Kerne angetroffen werden. Es erscheinen daher in der Arbeit trotz Durchsicht eines sehr umfangreichen Materials nur relativ wenige auswertbare Daten. Die sehr komplizierten Verhältnisse im Pachytän können auf indirektem Wege durch die Bearbeitung der Diakinese erschlossen werden. Durch Untersuchungen von STRAUB (1936) an *Campanula persicifolia* wurde eine unmittelbare Beziehung zwischen der Anzahl der in der Diakinese vorhandenen Endbindungen und der im Pachytän zustande gekommenen Chiasmen aufgefunden. Es lassen sich also aus der Struktur der Diakinesefiguren Rückschlüsse auf die Paarungsverhältnisse, vor allem auf Ablauf oder Nichtzustandekommen von Chiasmen, ziehen.

### *1. Die zytologischen Verhältnisse in der Diakinese verschiedener Arten der Gattung Physalis.*

Der meiotische Stadienablauf der Species *Physalis angulata*, *Ph. floridana*, *Ph. lancifolia*, *Ph. ixocarpa*, *Ph. peruviana*, *Ph. philadelphica* und *Ph. pubescens* ist als normal zu bezeichnen. In den Diakinesekernen dieser Arten finden sich

ausschließlich 12 Bivalente, die als Folge terminalisierter Chiasmen in der Regel beiderseits geschlossen sind (Abb. 1). Der Anteil offener Endbindungen und damit der Chiasmenausfall im vorhergehenden Pachytän ist relativ niedrig. Auszählungen von 100 Diakinesen von *Ph. peruviana* haben einen Bindungsausfall von 10,56% ergeben (Berechnung nach OEHLKERS 1935). Es fanden sich beson-

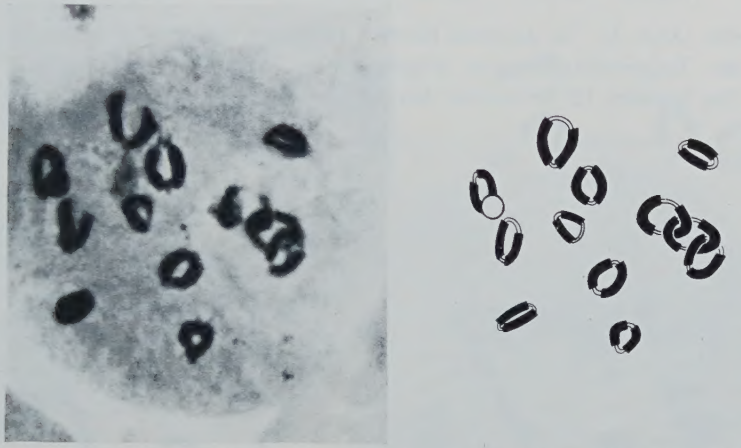


Abb. 1. Diakinesekern von *Physalis peruviana*. Es sind 12 geschlossene Bivalente vorhanden, die 3 Bivalente im rechten Bildteil zeigen interlocking. (Vergr. 2200fach.)

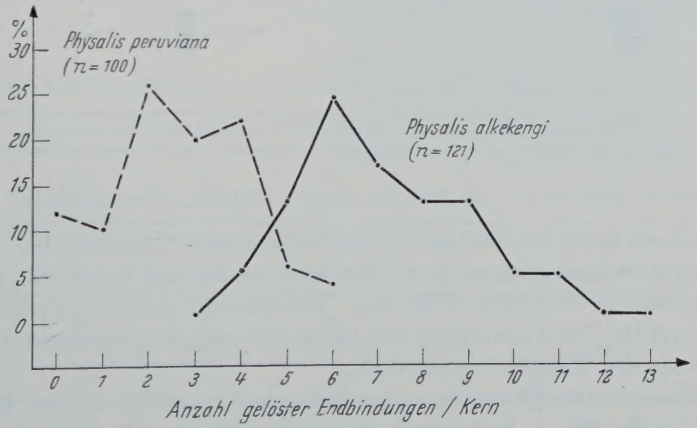



Abb. 2. Der Vergleich der Anzahl fehlender Endbindungen in den Diakinesekernen von *Ph. peruviana* und *Ph. alkekengi*.

ders häufig 2—4 fehlende Endbindungen je Kern; der höchste Wert lag bei 6, das Minimum bei 0. Die Werte für *Ph. peruviana* sind in Abb. 2 graphisch mit den entsprechenden Werten von *Ph. alkekengi* in Beziehung gesetzt.

Im Gegensatz zu den klar übersehbaren zytologischen Verhältnissen der eben genannten Arten treten in den Diakinesekernen der Spezies *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* neben normalen Bivalenten noch Chromosomen auf, die zu Ketten vereinigt sind. Die Anzahl der Kettenglieder dieser Verbände ist von Zelle zu Zelle verschieden und kann innerhalb sehr weiter Grenzen variieren. Die längste in 156 Diakinesekernen von *Ph. alkekengi* aufgefundene Konfiguration war eine

Tabelle 1. *Das Auftreten von Univalenten in 138 Diakinesekernen von Physalis alkekengi.*

| Keine Univalente | Univalente je Kern | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 10 |
| 29<br>21,0% | 36<br>26,1% | 35<br>25,4% | 20<br>14,5% | 9<br>6,5% | 3<br>2,2% | 3<br>2,2% | 2<br>1,4% | 1<br>0,7% |

Achterkette (Abb. 3). In anderen Kernen hingegen ließen sich keine Konfigurationen als Folgeerscheinungen abgelaufener Chromosomenmutationen nachweisen. Sie besaßen 12 Bivalente, bei denen jedoch häufig Bindungsausfall auf-

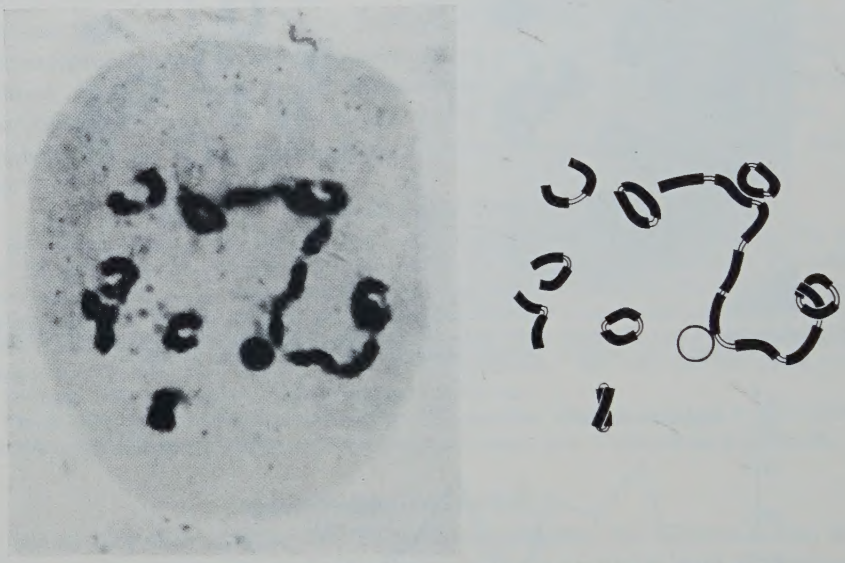


Abb. 3. Achterkette in der Diakinese von *Ph. alkekengi*. (Vergr. 2200fach.)

trat. Auffallend hoch war der Anteil an Univalenten. Während bei *Ph. peruviana* nur in 2 Diakinesekernen je 2 Univalente zu beobachten waren, traten sie bei *Ph. alkekengi* in 79% aller PMZ auf. Ihre Anzahl je Kern variierte dabei zwischen 1 und 10. Die Auswertung von 138 vollständig analysierbaren Diakinesekernen ist aus der Tabelle 1 ersichtlich.

Neben diesen beiden Extremen — der Achterkette und den offenen Bivalenten bzw. den Univalenten — finden sich in den Diakinesekernen von *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* Ketten mit allen dazwischenliegenden Gliederzahlen. In der Tabelle 2 sind die in 156 Kernen von *Ph. alkekengi* aufgefundenen Konfigurationstypen zusammengestellt. Besonders häufig trat die Dreierkette auf, auch Viererketten wurden relativ oft beobachtet. Demgegenüber traten Verbände mit mehr als 4 Chromosomen selten auf; Ringbildungen konnten in keinem Fall nachgewiesen werden. In Abb. 4 ist eine Fünferkette dargestellt. In etwa 26% aller Kerne waren 2 Ketten von gleicher oder verschiedener Länge vorhanden, dabei wurde die Kombination von 2 Dreierketten besonders häufig aufgefunden. Die Abb. 5 und 6 zeigen 2 Kerne von *Ph. alkekengi*, in denen je eine Dreier- und eine Fünferkette erkennbar ist. Die höchste in allen Kernen aufgefundene Gliederzahl

verketteter Chromosomen war 10, die Zahlen 9 und 10 traten jedoch niemals in Form einer einzigen Konfiguration auf. Sie wurden im gesamten Untersuchungsmaterial nur in 3 Kernen beobachtet, in denen 2 Ketten verschiedener Länge die Gesamtzahl von 9 bzw. 10 Chromosomen erreichten.

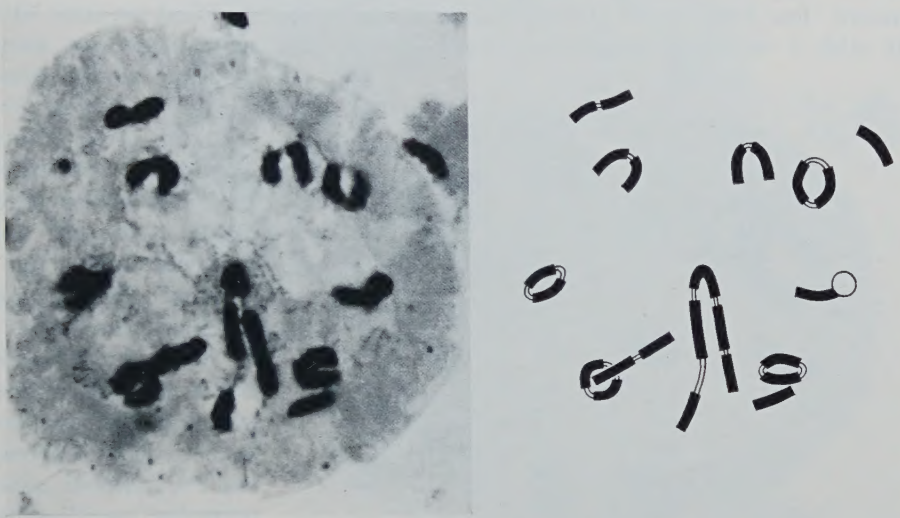


Abb. 4. *Ph. alkekengi:* eine Fünferkette, vier geschlossene, vier offene Bivalente und drei Univalente. (Vergr. 2200fach.)

Tabelle 2.

*Die in 156 Diakinesekernen von Physalis alkekengi aufgefundenen Konfigurationstypen.*

| 12 Bivalente | Dreierkette | Viererkette | Fünferkette | Sechserkette | Siebenerkette | Achterkette |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 13<br>8,3% | 46<br>29,5% | 27<br>17,3% | 8<br>5,1% | 2<br>1,3% | 2<br>1,3% | 4<br>2,6% |
| Dreierkette + Dreierkette | Dreierkette + Viererkette | Dreierkette + Fünferkette | Dreierkette + Sechserkette | Viererkette + Viererkette | Viererkette + Fünferkette | Viererkette + Sechserkette |
| 19<br>12,2% | 8<br>5,1% | 7<br>4,5% | 1<br>0,6% | 1<br>0,6% | 1<br>0,6% | 1<br>0,6% |
| A | B | C | D | E | F | G |
| | | | | | | |
| 4<br>2,6% | 2<br>1,3% | 2<br>1,3% | 4<br>2,5% | 2<br>1,3% | 1<br>0,7% | 1<br>0,7% |

Interessanter ist das Auftreten von Diakinesefiguren, die in ihrer Struktur und damit auch in ihrer Entstehungsweise von den bisher beschriebenen Ketten abweichen. Es handelt sich um Figuren verschiedener Gliederzahl, die an ihrem Ende ein geschlossenes oder ein offenes Bivalent tragen (Typen A—G, Tabelle 2, unten). Der Anteil dieser abweichend strukturierten Figuren liegt bei etwa 10%. In Abb. 7 ist der Konfigurationstypus F dargestellt. Er besteht aus einem Verband von 5 Chromosomen, von denen nur 3 in Form einer Kette miteinander verknüpft sind. An einem Ende dieser Kette ist eine Trivalentbindung mit 2 weiteren Chromosomen zustande gekommen.

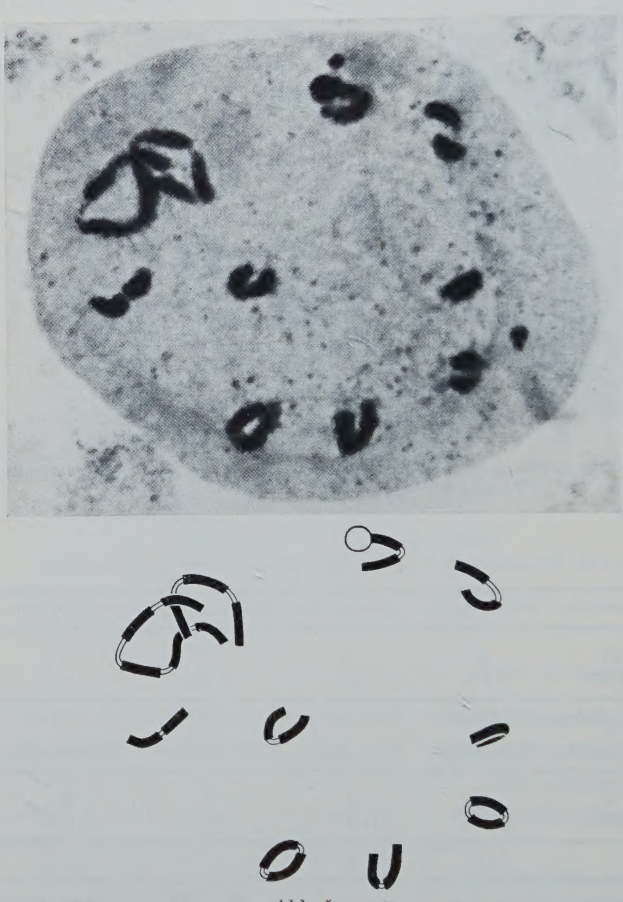
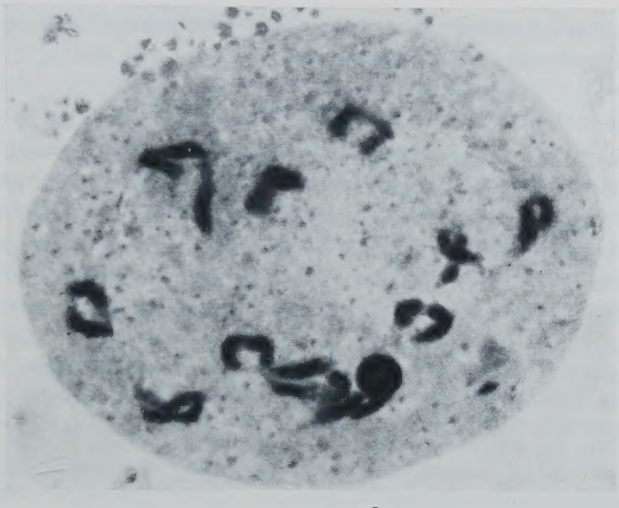


Abb. 5.

Außer den beschriebenen Konfigurationen traten in den Diakinesekernen von *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* neben normalen geschlossenen Bivalenten stets noch offene Gemini und Univalente in wechselnder Anzahl auf. Sie sind für die Festlegung der in den PMZ dieser Species vorhandenen Grundkonfiguration von Bedeutung. Aus diesem Grunde wurde aus allen vollständig analysierbaren Diakinesekernen die Anzahl der fehlenden Endbindungen und damit der Chiasmenausfall im Pachytän festgestellt. Die Daten von 121 Zellen der Species *Ph. alkekengi* sind in Abb. 2 graphisch wiedergegeben und mit der in ihrem zytologischen Verhalten „normalen" Species *Ph. peruviana* verglichen. Die theoretisch höchstmögliche Anzahl von 24 geschlossenen Endbindungen trat bei *Ph. alkekengi* niemals in Erscheinung. Der Bindungsausfall dieser Species lag bei 29,65% und damit um etwa den dreifachen Betrag höher als bei *Ph. peruviana*. Die niedrigste Anzahl fehlender Endbindungen war 3, sie trat nur ein einziges Mal auf, und zwar in dem in Abb. 3 dargestellten Kern, in dem sich außer einer Achterkette nur noch 2 offene Bivalente befanden. Auch in den Kernen mit vierfachem Bindungsausfall ist die Gliederzahl der vorhandenen Ketten hoch. Demgegenüber zeigen die Kerne mit vielen fehlenden Endbindungen nur niedrige Verkettungen



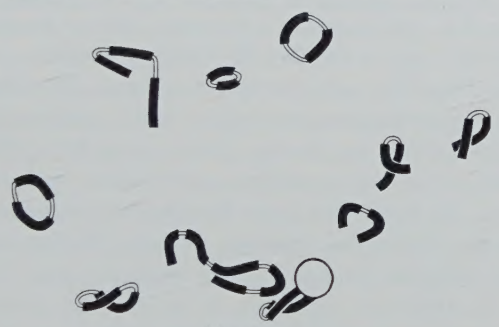
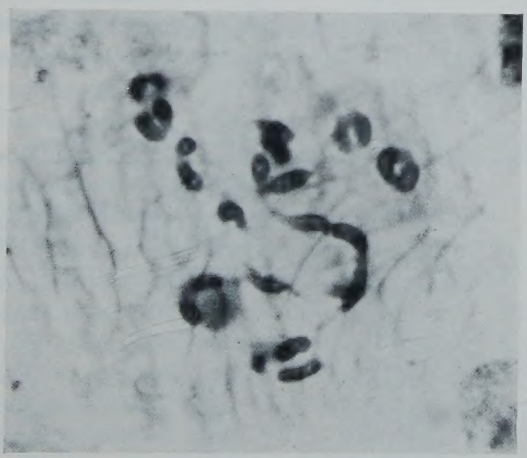


Abb. 6.

Abb. 5. u. 6. *Ph. alkekengi:* eine Dreier- und eine Fünferkette. (Vergr. 2200fach.)



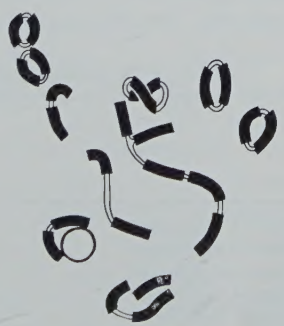


Abb. 7. Der Konfigurationstypus F von *Ph. alkekengi.* (Vergr. 2200fach, Erläuterung im Text.)

und in der Regel eine größere Anzahl von Univalenten. Der höchste Bindungsausfall lag bei 13; in der betreffenden Zelle waren 1 Dreierkette, 7 Univalente, 5 offene und nur 2 geschlossene Bivalente vorhanden. Kerne mit 6 fehlenden

Bindungen traten mit einem prozentualen Anteil von knapp 25% im vorliegenden Untersuchungsmaterial am häufigsten auf.

### *2. Pollensterilität und Samenansatz.*

Die in den frühen meiotischen Stadien von *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* zutage tretenden sehr labilen zytologischen Verhältnisse müssen zwangsläufig zu Verteilungsstörungen während der späteren meiotischen Stadien führen. Sie haben erwartungsgemäß eine hohe Pollensterilität und einen schlechten Samenansatz zur Folge. Um die Allgemeingültigkeit der ermittelten Befunde zu überprüfen, wurden verschiedene Herkünfte der bearbeiteten Species ausgewertet.

Die Pollensterilität wurde auf folgende Weise ermittelt: Es wurden reife, geöffnete Antheren ausgeklopft bzw. in einen Wassertropfen auf dem Objektträger eingetaucht. Die funktionsfähigen Pollen nehmen sofort Wasser auf und kugeln sich ab. Die zusammengeschrumpften sterilen Pollen besitzen diese Fähigkeit nicht. Durch den Druck des Deckglases platzen die gequollenen Pollenkörner leicht, sie sind dann morphologisch von den sterilen Pollen schlecht zu unterscheiden; die Auszählungen wurden infolgedessen ohne Deckglas vorgenommen. Von den Species *Ph. peruviana* und *Ph. alkekengi* wurden je 2 verschiedene Herkünfte auf ihre Pollensterilität untersucht. Hierzu wurden von jeder Herkunft 10 Antheren ausgewertet und je Anthere 200 Pollen ausgezählt.

Die beiden einander sehr nahe verwandten Arten *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* zeigen einen übereinstimmend hohen Anteil nichtfunktionsfähiger Pollen. Die Pollensterilität betrug bei beiden Arten etwa 85% (Tabelle 3). Als Vertreter der *Physalis*-Arten mit normalem meiotischen Verhalten wurde *Ph. peruviana* ausgewertet. Es wurde für diese Species eine Pollensterilität von 8—10% ermittelt; die beiden Herkünfte stimmen in ihren Werten ebenfalls gut überein. Die analogen Verhältnisse finden sich im Samenansatz (Tabelle 3). Die vier Herkünfte von *Ph. alkekengi* variierten in ihrem Samenansatz zwischen durchschnittlich 14 und 33 Samen je Frucht. Der Mittelwert dieser Species lag bei etwa 25. In der gleichen Größenordnung liegt wiederum *Ph. franchetii* mit 22. Im Gegensatz hierzu brachten die Arten mit normalem zytologischen Verhalten wesentlich höhere Samenerträge je Frucht. Die Werte für *Ph. peruviana* liegen bei 80—90, für *Ph. angulata* sogar bei 170.

Tabelle 3. *Pollensterilität und Samenansatz bei verschiedenen Physalis-Arten.*

| Species | Herkunft | Pollensterilität in Prozent (Durchschnittswerte von je 200 Pollen aus 10 Antheren) | Samenansatz (durchschnittliche Samenzahl je Frucht) |
|---|---|---|---|
| *Physalis alkekengi* | Freiburg | 85,5 | 14 |
| *Physalis alkekengi* | Bodensee | — | 23 |
| *Physalis alkekengi* | Kehl | 85,1 | 30 |
| *Physalis alkekengi* | Basel | — | 33 |
| *Physalis franchetii* | Basel | 84,5 | 22 |
| *Physalis peruviana* | Freiburg | 8,1 | 81 |
| *Physalis peruviana* | Basel | 10,0 | 93 |
| *Physalis lancifolia* | Forchheim | — | 121 |
| *Physalis angulata* | Wien | — | 168 |

Ein gewisser Anteil der Pollensterilität wird durch eine Fehlverteilung der Chromosomen in der 1. Anaphase verursacht. Chromosomenzählungen der Telophasekerne erbrachten nur bei 75,6% aller PMZ eine normale Verteilung von je

12 Chromosomen auf die beiden Dyadenkerne. In etwa einem Viertel aller Zellen kam eine Fehlverteilung von 11 + 13 Chromosomen zustande, die im männlichen Geschlecht erfahrungsgemäß zur Sterilität der entstehenden Keimzellen führt. Für *Ph. franchetii* lag der entsprechende Wert bei 72,3% für die Normalverteilung; in 27,2% aller Zellen erfolgte eine Verteilung von 11 + 13 und in 0,5% von 10 + 14 Chromosomen. Bei *Ph. peruviana* hingegen konnte dieser Effekt nur in einem Anteil von 3% aufgefunden werden. Darüber hinaus wurde in mehreren Zellen von *Ph. franchetii* ein „non-disjunction" beobachtet. Die beiden Homologen des betreffenden Bivalents waren noch im Telophasekern durch ein terminalisiertes Chiasma miteinander verbunden. Das non-disjunction trat auffallend oft beim gleichen Bivalent in Erscheinung; es handelt sich um einen Geminus, der sich durch seine Größe und eine etwas abweichende Struktur noch in der Meta- und Anaphase von den anderen Bivalenten des Kerns unterscheiden läßt.

Über die Anaphasenverteilung der Chromosomen aus den kettenförmigen Verbänden können keine sicheren Aussagen gemacht werden. In der 1. Metaphase liegen die Chromosomen innerhalb der Äquatorialplatte sehr dicht gedrängt, sie sind außerdem infolge ihrer intensiven Spiralisation von nahezu kugelförmiger Gestalt. Übersichtliche Seitenansichten von Äquatorialplatten lassen sich kaum auffinden. In einigen Fällen wurde bei *Ph. franchetii* die von den Oenotheren her bekannte Zickzackanordnung der Chromosomen einer Viererkette beobachtet. In anderen ganz frühen Anaphasen hingegen waren Viererketten innerhalb der Spindel so orientiert, daß jeweils 2 benachbarte Chromosomen an den gleichen Pol wanderten. Es hat also den Anschein, als sei die Verteilung der Chromosomen aus den Ketten nicht gesetzmäßig geregelt. Die Anzahl der analysierbaren Zellen reicht jedoch für die Beantwortung dieser Frage nicht aus.

## D. Theoretischer Teil.

### *1. Der Konfigurationstypus von Physalis alkekengi und Physalis franchetii.*

Die höchste in den Diakinesekernen dieser beiden Species aufgefundene Konfiguration war eine Achterkette, es waren jedoch in einigen Kernen zwei Ketten vorhanden, die offensichtlich auf eine gemeinsame Pachytänfigur zurückgehen und deren addierte Gliederzahl bei 9 und 10 Chromosomen lag. Es kann als Grundkonfiguration demnach ein Zehnerring angenommen werden, dessen Zustandekommen in Analogie zu den Verhältnissen in der Gattung *Oenothera* durch den Ablauf von 4 reziproken Translokationen während der Evolution erklärt werden kann. In den Pachytänkernen dieser Arten muß demnach eine 10schenkelige Paarungsfigur vorhanden sein, die die in Abb. 8 schematisch dargestellte Struktur haben könnte. Im Gegensatz zu *Oenothera Hookeri* und *Oe. argentinea* läßt sich eine Analyse dieser Figur insofern nicht durchführen, als es nicht möglich ist, anzugeben, welche Chromosomen des Satzes an der Bildung der Konfiguration beteiligt sind. Sie soll deshalb nach den Vorstellungen der Translokationshypothese nicht durch Zahlenketten, sondern durch Buchstaben in folgender Weise symbolisiert werden: a·c — c·e — e·g — g·i — i·k — k·h — h·f — f·d — d·b — b·a. Die in der Figur jeweils benachbarten Chromosomen sind halbhomolog. Aus dieser Pachytänfigur wird der Zehnerring in der Diakinese nur dann realisiert, wenn in allen Schenkeln der Figur Chiasmen zustande kommen und terminalisieren.

Das Charakteristikum der Species *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* liegt darin, daß die auf Grund der vorhandenen translozierten Chromosomen zu erwartende Diakinesekonfiguration infolge eines hohen Chiasmenausfalls nicht in Erscheinung tritt. Fällt in der Paarungsfigur des Pachytäns in einem Schenkel ein Chiasma aus, so entsteht in der Diakinese eine Zehnerkette. Kommen in zwei benachbarten Schenkeln keine Chiasmen zustande, so entstehen eine Neunerkette und ein Univalent. Tritt der gleiche Vorgang in drei benachbarten Schenkeln ein, so resultieren daraus eine Achterkette + zwei Univalente. Fehlen schließlich die Chiasmen in einander nicht benachbarten Schenkeln, so entstehen zwei getrennte Ketten (Abb. 8).

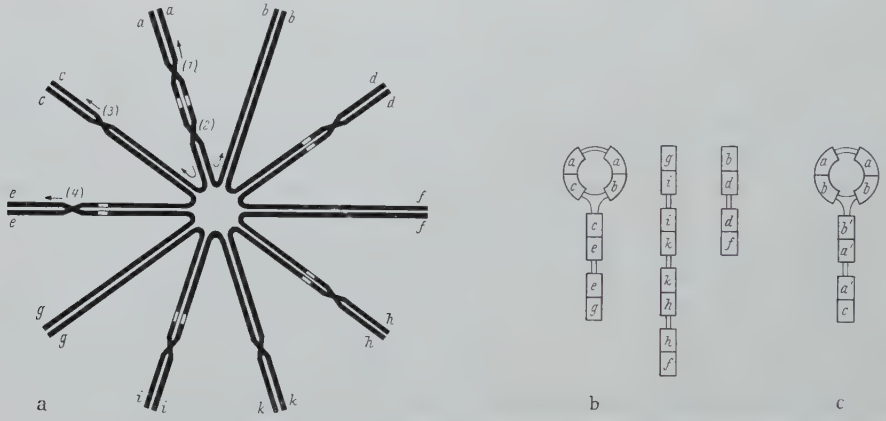



Abb. 8 a—c. Die für das Pachytän von *Ph. alkekengi* theoretisch ermittelte Paarungsfigur. Die Pfeile geben die Terminalisationsrichtung der Chiasmen an. b, c: Die aus der links gezeichneten Pachytänfigur entstehenden Diakinesekonfigurationen. (Erläuterungen im Text.)

Theoretisch wäre es denkbar, daß im Pachytän von *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* eine noch höhere Anzahl halbhomologer Chromosomen zu einer Paarungsfigur vereinigt ist, daß aber die langen Ringe oder Ketten durch den häufigen Bindungsausfall nicht erkennbar sind. Beim Zerfall eines hochgliedrigen Ringes können stets nur Ketten verschiedener Gliederzahl, also auch Zweierketten, d. h. *offene* Bivalente, entstehen. Die Anzahl der in der Diakinese vorhandenen *geschlossenen* Bivalente muß demnach einen Hinweis auf die höchstmögliche Chromosomenzahl geben, die zur Grundkonfiguration vereinigt sind. Eine zehngliedrige Figur entspricht 5 Bivalenten, es müssen also im Kern noch 7 Bivalente vorhanden sein. Da der Zehnerring in Bivalente zerfallen kann, ist die Anzahl der Bivalente in der Diakinese häufig höher, die Anzahl der *geschlossenen* Bivalente darf jedoch niemals höher sein als 7. Läge den beiden Arten ein Zwölferring oder eine noch höhere Verkettung zugrunde, so dürften außer den Teilstücken der Grundkonfiguration höchstens noch 6 oder entsprechend weniger geschlossene Bivalente auftreten. Da in mehreren Kernen 7 geschlossene Gemini gefunden wurden, kann das Vorhandensein eines zehngliedrigen Konfigurationstypus bei *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* als gesichert angenommen werden.

Etwas schwieriger sind die Konfigurationstypen A—G der Tabelle 2 zu deuten. Sie sind dadurch gekennzeichnet, daß nicht nur 2 nebeneinanderliegende halbhomologe Chromosomen zu einem kettenförmigen Verband vereinigt sind,

sondern daß in einer bestimmten Region der Konfiguration 3 Chromosomen durch terminalisierte Chiasmen miteinander verknüpft sind. In der Abb. 8 ist eine Deutungsmöglichkeit für die Entstehung des Konfigurationstypus B gegeben. Um die Figur nicht noch mehr zu komplizieren, ist die Tatsache, daß Chiasmen nur zwischen Chromatiden zustande kommen, zeichnerisch nicht berücksichtigt worden. Dem Vorgang ist die 10schenkelige Paarungsfigur des Pachytäns zugrunde gelegt. Es muß zunächst gefordert werden, daß in den Schenkeln b und g keine Chiasmen zustande kommen. Die Folge davon ist, daß nicht alle 10 Chromosomen der Pachytänfigur zu einer Diakinesekonfiguration vereinigt werden, es entstehen vielmehr 2 getrennte Figuren aus 4 + 6 Chromosomen.

Betrachten wir zunächst nur die Viererfigur, die aus den halbhomologen Chromosomen b·a — a·c — c·e — e·g zusammengesetzt ist. Eine Vereinigung dieser 4 Chromosomen zum Konfigurationstypus B ist nur unter der Voraussetzung möglich, daß im Schenkel a nicht nur im endständigen Segment ein Chiasma (1) zustande kommt, sondern daß ein zweites, interstitielles Chiasma (2) in der Region zwischen der Insertionsstelle und dem Mittelpunkt der Figur gebildet wird. Die Terminalisationsrichtung der beiden Chiasmen ist durch die Pfeile angegeben. Durch die Terminalisation der Chiasmen (1) und (2) kommt eine Vereinigung der beiden Chromosomen b·a und a·c zu einem geschlossenen Bivalent zustande. Da nun das Chromosom a·c noch ein weiteres Chiasma (3) besitzt, muß das eben erwähnte geschlossene Bivalent noch mit dem Chromosom c·e in Form einer Trivalentbindung verknüpft sein. Durch das Chiasma (4) schließlich wird noch das Chromosom e·g in die Konfiguration einbezogen. Für die übrigen Teile der Pachytänfigur ist ein dritter Chiasmenausfall im Schenkel *f* angenommen, so daß als Gesamtergebnis in der Diakinese neben dem Konfigurationstypus B eine Viererkette und ein offenes Bivalent zustande kommen (Abb. 8b). In entsprechender Weise lassen sich die Figuren A und C ableiten; sie unterscheiden sich von der Konfiguration B lediglich durch die Anzahl der mit dem Bivalent verbundenen Kettenglieder. Die Figuren D—G kommen zustande, wenn das Chiasma (1) ausfällt.

Die für die Entstehung der Konfigurationstypen A—G gegebene Deutung erfordert noch eine Zusatzhypothese. Die Terminalisation des Chiasma (2) wird bis zum Mittelpunkt der Paarungsfigur ohne Störungen ablaufen können, weil der Schenkel *a* aus homologen Regionen halbhomologer Chromosomen besteht. Soll das interstitielle Chiasma (2) aber bis zum Ende terminalisieren, so muß dieser Vorgang über die nichthomologen Regionen b und c der Chromosomen a·c und a·b hinweg erfolgen. Diese Annahme läßt sich mit dem bisher bekannten Normalverhalten der Chiasmen nicht vereinbaren. Ähnliche Figuren wurden von Oehlkers (1943) und Marquardt (1948) an *Oenothera* nach Einwirkung mutagener Chemikalien bzw. Röntgenstrahlen beobachtet. Beide Autoren interpretieren das Zustandekommen dieser Figuren ebenfalls damit, daß eine Konjugation zwischen Regionen nichthomologer Chromosomen zustande gekommen ist und daß ein interstitielles Chiasma über diese nichthomologen Zonen hinweg terminalisiert. Bei *Physalis* laufen die gleichen Vorgänge spontan ab, sie sind nicht einmal übermäßig selten. Der für das Wesen der Chiasmen entscheidende Vorgang ist offenbar ihr *Zustandekommen*, das in der Regel an das Vorhandensein von Spalthälften homologer Chromosomen gebunden zu sein scheint. Wenn auch bestimmte

Untersuchungsergebnisse an *Oenothera* dafür sprechen, daß auch in konjugierten Regionen nichthomologer Chromosomen Chiasmen gebildet werden können (MARQUARDT 1941), so handelt es sich hierbei wohl um selten realisierte Ausnahmefälle. Der *Ablauf ihrer Terminalisation* hingegen ist möglicherweise ein rein mechanischer Vorgang, der nicht unbedingt die volle Homologie der betreffenden Konjugationspartner voraussetzt.

Es ist noch eine andere Interpretation der Konfigurationstypen A—G möglich, wenn man die Species *Ph. alkekengi* als noch relativ junge polyploide Form auffaßt. Es würde damit die Zusatzhypothese der Terminalisation eines Chiasmas in konjugierten Regionen nichthomologer Chromosomen überflüssig werden. LINNERT (1948) hat bei experimentell hergestellten tetraploiden *Oenotheren* Quadrivalente gefunden, die in ihrem Aufbau im Prinzip den bei *Ph. alkekengi* beobachteten Figuren entsprechen. Sie finden ihre Erklärung durch Partnerwechsel zwischen homologen Bivalenten und durch bestimmte gegenseitige Lagebeziehungen von Insertionsstellen und Chiasmen. Überträgt man die Überlegungen von LINNERT auf die bei *Ph. alkekengi* realisierten Diakinesefiguren, so wäre das Zustandekommen der Typen A—G zu erklären, wenn schon ein einziges Bivalent zweimal im Kern vorhanden wäre und wenn die beiden einander entsprechenden Bivalente durch Partnerwechsel zu Quadrivalenten vereinigt würden. Für das Zustandekommen der 10schenkeligen Grundkonfiguration wären außer dieser Voraussetzung trotzdem noch 3 reziproke Translokationen notwendig. Die Konfiguration B hätte dann die Zusammensetzung $b \cdot a — a \cdot b — b' \cdot a' — a' \cdot c$, wobei $a \cdot b$ und $a' \cdot b'$ Chromosomen der homologen Bivalente darstellen. Das Chromosom $a \cdot c$ ist ein transloziertes Chromosom. Die Figur ist in Abb. 8c dargestellt. Im Locus der Trivalentbindung grenzen in dieser Kombination drei homologe Chromosomenregionen aneinander, nämlich die Zonen b, b, b'. Das Zustandekommen und Terminalisieren von Chiasmen in dieser Region ist ohne Komplikationen möglich.

Aus zytologischen Untersuchungen an anderen Arten der Gattung *Physalis* geht jedoch eindeutig hervor, daß diese ebenfalls 12chromosomigen Species weder heteroploide noch junge tetraploide Formen sind. Wäre dies der Fall, so müßten sich in den Diakinesekernen etwa von *Ph. peruviana* und *Ph. philadelphica* — Arten mit völlig normalem meiotischen Verhalten ohne Ring- oder Kettenbildung — Quadrivalente auffinden lassen. Es wurden jedoch stets nur normale Bivalente beobachtet. Auch das Auftreten von ähnlich strukturierten Konfigurationen bei normalen diploiden *Oenothera*-Bastarden spricht gegen diese Hypothese. Wir möchten das relativ häufige Zustandekommen der Figuren A—G deshalb eher als Bestätigung der von OEHLKERS (1943) und MARQUARDT (1948) ausgesprochenen Ansicht auffassen, daß für die Terminalisierung von Chiasmen nicht unbedingt eine Homologie der betreffenden Chromosomenregionen notwendig ist.

Es bleibt noch die Frage offen, auf welche Ursachen der für die Species *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* so charakteristische Chiasmenausfall zurückzuführen ist. In diesem Zusammenhang sei zunächst auf den hohen heterochromatischen Anteil der *Physalis*-Chromosomen hingewiesen. Die Species *Ph. philadelphica*, die in der Diakinese ausschließlich normale Bivalente besitzt, ist im Pachytän etwas zugänglicher als die anderen bearbeiteten Species. Von den 12 Chromosomen des Genoms konnten 9 identifiziert werden (GOTTSCHALK 1954), dabei wurde festgestellt, daß der Anteil des Heterochromatins an der Gesamtlänge der Chromosomen im Pachytän bei etwa 55% liegt. Das ist — verglichen mit anderen partiell heterochromatischen Gattungen der Familie der *Solanaceen* — ein sehr hoher Wert. Ähnlich hohe Anhaltswerte wurden für die Species *Ph. minima* und *Ph. alkekengi* ermittelt. Durch Untersuchungen von DARLINGTON (1933) und GEITLER (1933) an *Agapanthus* ist bekannt, daß in den heterochromatischen Segmenten partiell heterochromatischer Chromosomen keine Chiasmen zustande kommen. Diese Befunde wurden von MARQUARDT (1937) und von JAPHA (1939) an der Gattung *Oenothera* bestätigt, darunter an einem Bastard, der in der Dia-

kinese konstant einen Viererring aufweist. Die heterochromatischen Segmente des Rings verhielten sich bezüglich der Chiasmenbildung ebenso negativ wie die heterochromatischen Zonen normaler Bivalente. Es ist nun bekannt, daß die Anzahl der in einer Konjugationsfigur zustande kommenden Chiasmen unter anderem auch von der Länge der Schenkel dieser Figur abhängig ist. Je länger die konjugierten Regionen sind, um so höher ist die Chiasmenzahl. Wenn nun etwa bei der 10-schenkeligen Pachytänfigur von *Ph. alkekengi* mehr als 50% ihrer Gesamtlänge aus heterochromatischen Elementen bestehen, so wird die Anzahl der theoretisch zu erwartenden Chiasmen von vornherein geringer sein als in einer Konfiguration, die sich aus rein euchromatischen Chromosomen zusammensetzt. Darüber hinaus muß noch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß der Anteil des Bindungsausfalls in Species mit reziproken Translokationen im Ring offenbar größer ist als in den Bivalenten (Oehlkers 1935 an *Oenothera*). Diese beiden eben besprochenen Kriterien dürften in Verbindung mit der labilen genetischen Konstitution die Hauptursache für den hohen Chiasmenausfall in der Pachytänfigur der Species *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* sein.

Die Herabsetzung der Chiasmenfrequenz ist für eine Reihe von Objekten bereits beschrieben worden (Sax 1931, Oehlkers 1935, 1936, 1937, 1940, Straub 1936, Ernst 1938, 1939, Harte 1952). In allen diesen Fällen wurde eine Abhängigkeit der Anzahl der realisierten Endbindungen von Außenbedingungen, vor allem von der Temperatur, festgestellt. So steigt der Bindungsausfall nach Abkühlung auf + 5° C bei *Rhoeo discolor* auf 80% (Straub 1936). Diese abweichenden Werte treten jedoch nur unter bestimmten Versuchsbedingungen auf. Sie können mit den Verhältnissen bei *Physalis* nicht unmittelbar in Beziehung gesetzt werden, da in den vorliegenden Untersuchungen ausschließlich Material verwendet wurde, das unter völlig normalen Freilandbedingungen aufgezogen wurde. Die Vergleichswerte für frisch hergestellte *Oenothera*-Bastarde werden von Oehlkers (1935) mit 6,86% angegeben. *Rhoeo discolor* zeigt unter normalen Bedingungen eine noch höhere Stabilität; Straub (1936) gibt einen Bindungsausfall von nur 2,33% an. In der gleichen Größenordnung liegt der Wert für *Campanula persicifolia*. Demgegenüber wurde für *Physalis alkekengi* ein Bindungsausfall von 29,65% ermittelt. Es kann also angenommen werden, daß die beiden Arten *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* bereits unter normalen Lebensbedingungen eine besonders hohe, offenbar genetisch bedingte Labilität bezüglich der Bildung oder des Ausfalls von Chiasmen aufweisen. Möglicherweise genügen schon die Temperaturunterschiede zwischen Tag und Nacht, um die Chiasmenbildung zu unterdrücken. Am ehesten können noch die Befunde von Marquardt (1948) an *Oenothera Hookeri* mit den bei *Physalis* realisierten Verhältnissen verglichen werden. Marquardt erhielt nach Röntgenbestrahlung Viererringe, die bei 2 Organismen ebenfalls einen sehr hohen Bindungsausfall zeigten. Die ursprünglich 4chromosomigen Verbände wurden in mehr als 50% aller Fälle in Zweier- und Einergruppen zerlegt. In den gleichen Organismen wurden auch die bei *Physalis* vorhandenen Konfigurationstypen B, C und E aufgefunden.

### *2. Die Ursachen der Pollensterilität.*

Im empirischen Teil wurde für die beiden Arten *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* eine Pollensterilität von etwa 85% angegeben. Durch Brückenbildungen

in der 1. und 2. Anaphase, ferner durch in der Äquatorialebene liegengebliebene Chromosomen, die nicht mit in die Tochterkerne einbezogen werden, ergibt sich ein Anteil von etwa 3%. Eine weitere 25—30%ige Sterilität ist durch eine Fehlverteilung der Chromosomen in der 1. Anaphase erklärbar. Als Ursachen dieser Fehlverteilung können zum Teil die mehrfach beobachteten Fälle von non-disjunction angesehen werden. Häufiger werden die abweichenden Chromosomenzahlen in den beiden Dyadenkernen jedoch durch die zufallsgemäße Verteilung der reichlich vorhandenen Univalente zustande kommen. Aus einer Neunerkette werden 5 Chromosomen an den Pol A, 4 an den Pol B wandern. Kommt nun das zugehörige Univalent ebenfalls zum Pol A, so resultiert daraus eine Fehlverteilung von 11 + 13 Chromosomen in der betreffenden PMZ. Nur wenn dieses Univalent in den Kern B einbezogen wird, ist das zahlenmäßige Gleichgewicht zwischen den beiden Tochterkernen vorhanden.

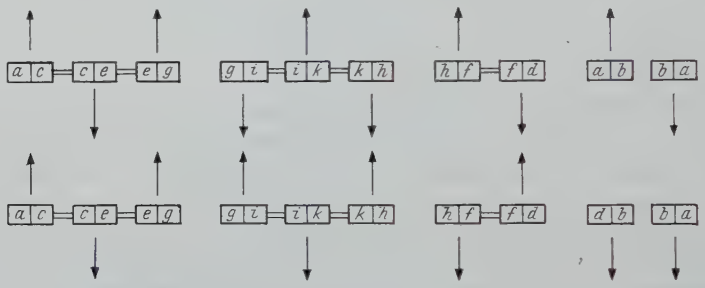


Abb. 9. Zwei Verteilungsmöglichkeiten der halbhomologen Chromosomen der Grundfiguration von *Ph. alkekengi*. Die obere Verteilung führt zu fertilen, die untere zu sterilen Keimzellen.

Die zytogenetische Bearbeitung der Gattung *Oenothera* hat gezeigt, daß beim Vorhandensein von ring- oder kettenförmigen Konfigurationen in der Meiosis durch ein zahlenmäßiges Gleichgewicht noch keine Fertilität der Keimzellen garantiert ist. Es muß vielmehr durch einen gesetzmäßig festgelegten Verteilungsmechanismus der zur Konfiguration vereinigten halbhomologen Chromosomen dafür Sorge getragen werden, daß in den beiden Dyadenkernen der volle Satz von Genen vorhanden ist. Dies wird in der Gattung *Oenothera* dadurch erreicht, daß jeweils benachbarte Chromosomen aus dem Ring oder der Kette an entgegengesetzte Pole wandern. Es konnte leider nicht mit Sicherheit festgestellt werden, ob in der Gattung *Physalis* eine ähnliche Gesetzmäßigkeit vorliegt. Selbst wenn sie vorhanden wäre, kann sie in der Meta- und Anaphase nicht wirksam werden, weil in der überwiegenden Zahl aller PMZ von *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* in der Diakinese wegen des hohen Chiasmenausfalls nur Teilstücke der Grundkonfiguration gebildet werden. Es wandern wohl aus jeder Teilkette benachbarte Chromosomen an verschiedene Pole, das Verhalten aller vorhandenen Teile der Gesamtkonfiguration ist jedoch nicht korreliert. Es kann infolgedessen keine geregelte Verteilung aller im Kern vorhandenen Chromosomen erwartet werden. Die etwas komplizierten Verhältnisse seien an einem Beispiel erklärt. Nehmen wir an, es seien von der Grundkonfiguration durch Chiasmenausfall als Teilstücke zwei Dreierketten, ein offenes Bivalent und zwei Univalente in der Diakinese entstanden. In der Abb. 9 sind zwei Verteilungsmöglichkeiten der Chromosomen aus diesen Teilfiguren dargestellt. In beiden Fällen kommt in den

Dyadenkernen die normale Chromosomenzahl zustande. Im Fall A erhalten die beiden Tochterkerne alle Chromosomenregionen von a—k und damit in genetischer Beziehung ein vollständiges Genom; es werden funktionsfähige Keimzellen entstehen. Im Fall B soll die zweite Dreierkette gegenüber dem Fall A um 180° gedreht in die Äquatorialebene eingeordnet werden. Dadurch erhält der obere Tochterkern die Region g zweimal, es fehlt ihm dafür die Region b mit ihren Genen; im unteren Kern ist es umgekehrt. Die vier aus dieser PMZ entstehenden Pollen sind steril. Da die Einordnung der Ketten und auch die Verteilung der im Kern vorhandenen Univalente dem Zufall überlassen ist, wird mit einer häufigen Fehlverteilung des genetischen Materials zu rechnen sein. Diese beiden Faktoren sind die Hauptursachen für die hohe Pollensterilität.

Der Unterschied zwischen fertilen und sterilen Pollen läßt sich morphologisch in den Gonen noch nicht feststellen. Die genetische Unausgeglichenheit der Genome wirkt sich anscheinend erst in der Pollenmitose letal aus. In den Embryosack-Mutterzellen laufen offenbar die gleichen Störungen ab, es wird infolgedessen die Eizelle vieler Embryosäcke ebenfalls funktionsunfähig sein. Die Folge davon ist der bei *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* beobachtete geringe Samenansatz.

## Zusammenfassung.

1. In den Diakinesekernen der Species *Physalis alkekengi* und *Ph. franchetii* treten kettenförmige Chromosomenverbände verschiedener Gliederzahlen auf, die als Folge abgelaufenen Translokationen anzusehen sind.

2. Als Grundkonfiguration wurde für das Pachytän eine 10schenkelige Paarungsfigur ermittelt, die in der Diakinese zu einem Zehnerring führen müßte. Auf Grund eines sehr hohen Chiasmenausfalls tritt jedoch der Zehnerring nicht in Erscheinung. Als längster Chromosomenverband wurde eine Achterkette gefunden. Besonders häufig treten Dreier- und Viererketten auf; die Anzahl von Univalenten ist sehr hoch.

3. Außer den kettenförmigen Verbänden wurden noch andere, strukturell abweichende Konfigurationstypen beobachtet. Für ihr Zustandekommen wurde die Terminalisation von Chiasmen über Regionen nichthomologer Chromosomen hinweg angenommen.

4. Die beiden Arten *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii* weisen eine Pollensterilität von etwa 85% und einen sehr geringen Samenansatz auf. Die Pollensterilität ist auf eine Fehlverteilung der zur Grundkonfiguration gehörigen halbhomologen Chromosomen und der Univalente, zum Teil auch auf non-disjunction, zurückzuführen. Es ließ sich nicht feststellen, ob die Chromosomenverteilung aus den Ketten gesetzmäßig geregelt erfolgt.

5. Die anderen bearbeiteten Arten der Gattung *Physalis* zeigen ein normales meiotisches Verhalten. Ringe oder Ketten treten in ihren Diakinesekernen nicht auf. Die Pollensterilität lag bei *Ph. peruviana* erheblich niedriger als bei den Species *Ph. alkekengi* und *Ph. franchetii*, sie erreicht jedoch mit 8—10% noch immer einen relativ hohen Wert.

Die Untersuchungen für die vorliegende Arbeit wurden im Jahre 1951 am Botanischen Institut der Universität Freiburg begonnen und am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Abteilung für Pflanzenbau und Züchtungsbiologie, Neuhof bei Gießen, abgeschlossen.

## Literatur.

Belling, J., and A. F. Blakeslee: On the attachment of non homologous chromosomes at the reduction division in certain 25-chrom. *Daturas*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **12** (1926). Zit. nach Marquardt 1937. — Cleland, R. E., and A. F. Blakeslee: Segmental interchange, the basis of the chromosomal attachments of *Oenothera*. Cytologia **2**, 175—233 (1931). — Cleland, R. E., u. F. Oehlkers: Erblichkeit und Zytologie verschiedener Oenotheren und ihrer Kreuzungen. Jb. wiss. Bot. **73**, 1—124 (1930). — Darlington, C. D.: Meiosis in *Agapanthus* and *Kniphofia*. Cytologia **4**, 229—240 (1933). — Ernst, H.: Meiosis und crossing over. Zytologische und genetische Untersuchungen an *Antirrhinum majus*. Z. Bot. **33**, 241—294 (1938). — Zytogenetische Untersuchungen an *Antirrhinum majus*. Z. Bot. **34**, 81—111 (1939). — Geitler, L.: Das Verhalten der Chromozentren von *Agapanthus* während der Meiosis. Österr. bot. Z. **82**, 277—282 (1933). — Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchung. Wien 1949. — Gottschalk, W.: Die Chromosomenstruktur der Solanaceen unter Berücksichtigung phylogenetischer Fragestellungen. Chromosoma **6** (1954). — Harte, C.: Untersuchungen über die Nachkommenschaft von Heterozygoten der *graminifolia*-Koppelungsgruppe von *Antirrhinum majus*. Z. Abstammgslehre **84**, 480—507 (1952). — Haustein, E.: Die Endenbezifferung der Chromosomen einiger Oenotheren aus dem Subgenus *raimannia*. Z. Abstammgslehre **84**, 417—453 (1952). — Japha, B.: Die Meiosis von *Oenothera* II. Z. Bot. **34**, 321—369 (1939). — Linnert, G.: Untersuchungen über die Cytologie polyploider Pflanzen. I. Chromosoma **3**, 328—356 (1948). — Marquardt, H.: Die Meiosis von *Oenothera*. I. Z. Zellforsch. **27**, 159– 210 (1937). — Über Bau, Häufigkeit und Auswirkungen der spontanen Translokationen. Flora, N. F. **35**, 239—302 (1941). — Das Verhalten röntgeninduzierter Viererringe mit großen interstitiellen Segmenten bei *Oenothera Hookeri*. Z. Abstammungslehre **82**, 415—429 (1948). — Oehlkers, F.: Erblichkeit und Zytologie einiger Kreuzungen mit *Oenothera strigosa*. Jb. wiss. Bot. **65**, 401—446 (1926). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. I. Z. Bot. **29**, 1—53 (1935). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. III. Z. Bot. **30**, 253—276 (1936). — Neue Versuche über zytologisch-genetische Probleme. (Physiologie der Meiosis.) Biol. Zbl. **57**, 126—149 (1937). — Meiosis und crossing over. Biol. Zbl. **60**, 337—348 (1940). — Die Auslösung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. Z. Abstammgslehre **81**, 313—341 (1943). — Renner, O.: Artbildung in der Gattung *Oenothera*. Naturwiss. **33**, 211—218 (1946). — Befruchtung und Embryobildung bei *Oenothera Lamarckiana* und einigen verwandten Arten. Flora (Jena) **107**, 115—150 (1915). — Versuche über die gametische Konstitution der Oenotheren. Z. Abstammgslehre **18**, 121 (1917). — Sax, K.: Chromosome ring formation in *Rhoeo discolor*. Cytologia **3**, 36—53 (1931). — Schiemann, E.: Das *Oenothera*-Problem, Chromosomenringe und strukturelle Bastarde. Naturwiss. **21**, 532—536 (1933). — Straub, J.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. II. Z. Bot. **30**, 1—57 (1936).

Dozent Dr. Werner Gottschalk, Neuhof bei Gießen.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 86, S. 173—184 (1954).

Aus dem Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Buch, Abteilung für Genetik, und aus dem Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie, Berlin-Dahlem.

# GENETISCHE ANALYSE SPONTANER UND INDUZIERTER MUTATIONEN DES X-CHROMOSOMS VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Von

H. J. Belitz.

*(Eingegangen am 11. Mai 1954.)*

## Inhalt.

Seite

I. Einleitung . . . . . 173
II. Material und Methodik . . . . . 174
III. Genetische Analyse geschlechtsgebundener Mutationen . . . . . 175
1. Spontane Mutationen . . . . . 175
2. Durch schnelle Neutronen induzierte Mutationen . . . . . 176
3. Durch Miracil induzierte Mutationen . . . . . 177
4. Durch ein Triazinderivat induzierte Mutationen . . . . . 178
IV. Vergleich der Mutationsverteilung nach Triazinbehandlung mit anderen Verteilungen . . . . . 181
V. Diskussion . . . . . 182
Zusammenfassung . . . . . 183
Literatur . . . . . 184

## I. Einleitung.

Die Möglichkeit der Auslösung von Erbänderungen durch Chemikalien eröffnet neue Wege zur Untersuchung des Mutationsvorganges und der Natur des genetischen Materials. Bis jetzt ist der Wirkungsmechanismus der verschiedenen chemischen Mutagene noch weitgehend ungeklärt, und selbst die Frage, ob von ihnen prinzipiell andere primäre Prozesse eingeleitet werden als von ionisierenden Strahlungen, ist noch nicht entschieden. So erhält man zwar nach Einwirkung von Chemikalien die gleichen Mutationstypen wie unter dem Einfluß ionisierender Strahlungen, aber quantitativ bestehen gewisse Unterschiede. Besonders der Anteil der Translokationen ist unter den bisher chemisch induzierten Erbänderungen geringer als nach Behandlung mit Röntgenstrahlen (Auerbach, Robson und Carr 1947, Vogt 1950). Im Gegensatz dazu findet man unter den chemisch induzierten Mutationen weit häufiger Mosaikmutanten und „labile" Mutationen (Auerbach 1951a, b). Wichtig ist ferner der Befund von Auerbach und Moser (1951), daß Senfgasbehandlung in einer Stickstoffatmosphäre eine ebenso hohe Mutationsrate liefert wie in einer Sauerstoffatmosphäre, während Röntgenbestrahlung im ersten Fall eine niedrigere, im zweiten Fall eine höhere Mutationsrate als in atmosphärischer Luft ergibt.

Verschiedene Autoren untersuchten die Verteilung von rezessiven sichtbaren und letalen Mutationen, die durch Röntgenstrahlen (Muller 1928, Spencer und Stern 1948) oder chemische Mutagene wie Senfgas (Slizynska und Slizynski 1947), Stickstofflost (Burdette und Haddox 1952) und Äthylurethan (Vogt 1950) im X-Chromosom von *Drosophila melanogaster* erzeugt worden waren. Sie

stellen übereinstimmend fest, daß in jedem Fall die erhaltenen Mutationen über die ganze Länge der genetischen Karte des Chromosoms verteilt sind. Dagegen glauben Hadorn, Rosin und Bertani (1949) Anhaltspunkte für eine locusspezifische Wirkung des Phenols gefunden zu haben. Ihre Untersuchungen beziehen sich auf rezessive Letalfaktoren des 2. Chromosoms von *Drosophila melanogaster*. Auerbach (1951a) weist jedoch darauf hin, daß über die Mutabilität der Loci dieses Chromosoms unter anderen Bedingungen zu wenig bekannt ist, um das Phenol für diesen Effekt verantwortlich machen zu können. Andererseits erscheint die Existenz locusspezifisch wirkender Mutagene nicht ausgeschlossen.

In der vorliegenden Arbeit wird das Ergebnis der genetischen Analyse von 260 mutierten X-Chromosomen von *Drosophila melanogaster* mitgeteilt, die teils spontan in verschiedenen Kontrollversuchen, teils nach Behandlung mit schnellen Neutronen, mit Miracil und mit einem Triazinderivat aufgetreten sind.

## II. Material und Methodik.

Alle Mutationsversuche, die das Material für die vorliegenden Untersuchungen lieferten, wurden mit dem Stamm „Berlin wild" von *Drosophila melanogaster* durchgeführt. Die Erfassung der Mutationen und ihre Weiterzucht erfolgte bei den Neutronenversuchen mit der *ClB*-Methode, in allen übrigen Versuchen mit der *Muller-5*-Methode. Mit wenigen Ausnahmen wurden nur Letalfaktoren analysiert. Die Lokalisation dieser Mutationen wurde nach der Rückkreuzungsmethode mit einem *Xple*-Stamm vorgenommen, dessen X-Chromosom durch die Gene *sc ec ct v g f* markiert war. Für diese Kreuzungen wurde je ein Weibchen mit zwei *Xple*-Männchen angesetzt und nach 3 Tagen aus den Zuchtgläsern entfernt. Die Haltung aller Versuchskulturen erfolgte im Brutschrank bei einer Temperatur von $25 \pm 0{,}3^{0}$ C.

Bei der Berechnung der Loci wurde nur der Austausch zwischen dem Letalfaktor und den beiden benachbarten Markierungsgenen berücksichtigt. Die Locusbestimmung der rechts von *f* liegenden Letalfaktoren erfolgte an Hand des Austauschwertes zwischen dem Letalfaktor und *f*. Schwierigkeiten ergaben sich dabei nur bei der Lokalisation derjenigen Letalfaktoren, bei denen gelegentlich „Durchbrenner" (Hadorn 1949) auftraten. Wenn sich die Durchbrenner phänotypisch nicht von Männchen unterscheiden, die durch einen Austausch zwischen *f* und dem Letalfaktor entstanden sind, liegen die errechneten Loci rechts vom wahren Genort. Da jedem Austauschwert und somit jedem errechneten Locus ein mittlerer Fehler zukommt, ist es durchaus möglich, daß auch in den übrigen Fällen die angegebenen Loci nicht immer mit dem tatsächlichen Genort übereinstimmen. Eine Identität oder Allelie zwischen 2 Mutationen kann also auf diesem Wege allein nicht erschlossen werden. Auf die Angabe des jeweiligen Fehlers wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet.

Die Berechnung der Loci erfolgte in 3 Fällen aus weniger als 150 $F_2$R-Männchen, in 17 aus 150—200, in allen übrigen aus mehr als 200. Ergaben sich bei dem Vergleich der empirischen mit den theoretischen Austauschwerten zwischen den Markierungsgenen parallele Abweichungen in beiden Geschlechtern, wurde auf eine Chromosomenmutation geschlossen; Austauschstörungen, die nur auf

abweichenden Häufigkeiten der Männchenklasse beruhen, deuten auf die Anwesenheit von mehr als einem Letalfaktor in dem betreffenden X-Chromosom hin. Die Beurteilung der Austauschwerte erfolgte mittels der $\chi^2$-Methode.

## III. Genetische Analyse geschlechtsgebundener Mutationen.

### *1. Spontane Mutationen.*

Die Verteilung spontan entstandener Letalfaktoren über die genetische Karte des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* ist unseres Wissens bisher nicht in größerem Umfang untersucht worden. Genau bekannt ist lediglich die Verteilung der sichtbaren Mutationen (Bridges und Brehme 1944). Da in dieser Übersicht die Mutationsraten der einzelnen Loci nicht berücksichtigt sind und es außerdem sicher Loci gibt, die zwar letale, aber bisher keine sichtbaren Mutationen geliefert haben, brauchen beide Verteilungen nicht miteinander übereinzustimmen. Andererseits kommen Slizynska und Slizynski (1947) nach einer statistischen Untersuchung zu dem Ergebnis, daß die letalen Mutationen wahrscheinlich von den gleichen Loci geliefert werden wie die sichtbaren. Um ein genaues Bild von der Verteilung spontaner Letalfaktoren über die genetische Karte des X-Chromosoms zu erhalten, ist die Bearbeitung eines großen Materials erforderlich. Dem steht jedoch die sehr niedrige spontane Mutationsrate entgegen, die im Stamm „Berlin wild" bei Anwendung der *Muller-5*-Methode etwa 0,2% beträgt. Aus diesem Grunde ist das hier zur Verfügung stehende Material gering. Es umfaßt 29 Letalfaktoren und einen Subletalfaktor aus verschiedenen Kontrollversuchen mit unbehandelten P-Männchen und aus Mutationsversuchen mit DDT (H. Lüers 1953), E 605 und Aceton, Stoffen, die sich als nichtmutagen erwiesen hatten. Die Verteilung der 29 spontanen Letalfaktoren ist in Tabelle 1

Tabelle 1. *Verteilung von 29 spontanen Letalfaktoren über die genetische Karte des X-Chromosoms von Drosophila melanogaster.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4,2 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | 14,2 | | 24,9 | | | | 44,4 | | | | | |
| 0,0 | | 14,0 | 19,6 | 22,2 | | | | 41,9 | 49,0 | 53,7 | | | 70,0 |
| 0,0 | — | 12,5 | 18,9 | 22,0 | 26,7 | — | 35,1 | 40,7 | 48,2 | 52,3 | — | 61,2 | 67,7 |

dargestellt. Dabei sind die innerhalb eines Abschnittes von 5 Austauscheinheiten liegenden Erbänderungen jeweils in einer Spalte zusammengefaßt. Der Subletalfaktor liegt in der Region *ct*—*v*, sein Locus ließ sich nicht genau ermitteln.

Besonders erwähnt sei der Letalfaktor des Locus 41,9 ±. Hier traten in der $F_2R$ einige Durchbrenner auf, deren Flügel entweder nicht entfaltet oder wellenförmig zerknittert waren. Die Flügel einiger Männchen glichen dem typischen wavy (*wy*)-Flügel. Da *wy* ebenfalls bei 41,9 liegt, wurde mit $wy^2$-Männchen ein Allelietest durchgeführt. Alle $F_1$-Weibchen waren phänotypisch normal, beide Mutationen sind also nicht allel. Die Durchbrenner erwiesen sich als steril.

Im Hinblick auf die später zu besprechenden Untersuchungen an induzierten Mutationen erscheint die Feststellung wichtig, daß unter den spontan entstandenen Erbänderungen keine Chromosomenmutationen gefunden wurden. Wahrscheinlich enthält das Material aber einige genetisch nicht erfaßbare minute rearrangements. Wie Slizynska und Slizynski (1947) feststellten, ist die Häufigkeit dieses Typs chromosomaler Strukturveränderungen unabhängig von dem mutagenen Agens und beträgt in spontanem Material wie nach Röntgen-, UV-, Neutronenbestrahlung oder chemischer Induktion etwa 20%. Allerdings muß nach Muller (1950) der Anteil der minute rearrangements mit zunehmender Häufigkeit der großen Chromosomenumbauten abnehmen. Da jene bei allen Behandlungsmethoden mit gleicher relativer Häufigkeit auftreten, dürften sie die Verteilungsbilder der Punktmutationen nicht wesentlich beeinflussen.

*2. Durch schnelle Neutronen induzierte Mutationen.*

Im folgenden wird das Ergebnis der Analyse von 50 letalen Mutationen mitgeteilt, die in Versuchen von N. W. Timoféeff-Ressovsky und Zimmer (1938) bei Behandlung mit schnellen Li + D-Neutronen aufgetreten waren, und die von H. A. Timoféeff-Ressovsky und H. Lüers (unveröffentlicht) kreuzungsanalytisch untersucht wurden. Die in den 3 Versuchsreihen applizierten Dosen betrugen etwa 490, 930 und 1760 r-Äquivalente, die dazugehörigen Raten rezessiver geschlechtsgebundener Mutationen 1,14, 2,17 und 3,53% (M = 2,08). Diese Mutationsraten liegen niedriger als nach einer Behandlung mit äquivalenten Röntgenstrahlendosen, weil Neutronenstrahlen dichter ionisieren und infolgedessen ein erheblicher Teil der Ionisationen für die Mutationsauslösung verlorengeht.

Unter den 50 analysierten Mutationen erwiesen sich 9 als Chromosomenmutationen, von denen sich 2 in einer Serie aufgetretene genetisch gleich verhielten. Sie wurden als in einer Spermatogonie entstanden aufgefaßt und als eine Mutation gewertet. Der Anteil der genetisch erfaßbaren Chromosomenmutationen an allen Erbänderungen beträgt 16,3%. Zum Vergleich sei erwähnt, daß 1500 r Röntgenstrahlen etwa 4,48% rezessive geschlechtsgebundene Punktmutationen und 0,58% genetisch erfaßbare Chromosomenmutationen liefern (Timoféeff-Ressovsky 1939); demnach sind bei der angegebenen Röntgenstrahlendosis nur etwa 11,4% aller genetisch erfaßbaren geschlechtsgebundenen Erbänderungen mit größeren chromosomalen Strukturveränderungen verbunden. Der höhere Prozentsatz dieses Mutationstyps in dem vorliegenden Neutronenmaterial kann durchaus zufälliger Natur sein. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß auch Fano (1944) nach Neutronenbestrahlung einen höheren Anteil von Chromosomenmutationen erhielt.

Die restlichen 41 Letalfaktoren in unserem Material sind Punktmutationen oder genetisch nicht erkennbare minute rearrangements, deren Verteilung über die genetische Karte des X-Chromosoms Tabelle 2 zeigt. In der Region 0—5 liegt ein Maximum, auf das rechts ein Minimum folgt. Das völlige Fehlen von Mutationen in der Region 5—15 beruht vermutlich auf dem zu kleinen Material. Auffällig ist auch das Maximum am rechten Chromosomenende.

Am äußersten linken Ende des Chromosoms liegen etwa 17% aller Punktmutationen. Das entspricht genau den Daten von Spencer und Stern (1948) für spontane und röntgeninduzierte Mutationen.

Tabelle 2. *Verteilung von 41 durch schnelle Neutronen erzeugte Letalfaktoren über die genetische Karte des X-Chromosoms von Drosophila melanogaster.*

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,0 | | | | | | | | | | | | 70,0 |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | 70,0 |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | 69,6 |
| 0,0 | | | | 24,6 | 29,2 | 32,8 | | | 49,3 | | | 69,4 |
| 0,0 | | | | 22,4 | 28,0 | 31,6 | | | 49,0 | | 64,5 | 68,3 |
| 0,0 | | | | 22,2 | 26,5 | 30,2 | 35,5 | 42,2 | 47,3 | | 57,5 | 64,3 | 66,8 |
| 0,0 | — | — | 19,0 | 20,5 | 25,7 | 30,2 | 35,0 | 40,2 | 47,0 | 50,6 | 55,9 | 61,7 | 65,4 |

*3. Durch Miracil induzierte Mutationen.*

Miracil (Bayer), 1-Diäthylamino-äthylamino-4-methyl-thioxanthon, wurde als Heilmittel gegen die Bilharziose entwickelt. GÖNNERT (1947) vermutete auf Grund zytologischer Befunde an Hoden von *Bilharzia mansoni*, daß die Verbindung als Prophasegift eine direkte Kernschädigung verursacht, „die ihren sichtbaren Ausdruck in der Mitosehemmung hat".

In Mutationsversuchen mit Miracil an *Drosophila melanogaster* (H. LÜERS, unveröffentlicht) traten bei einer durchschnittlichen Mutationsrate von 0,44% insgesamt 28 Letalfaktoren auf, von denen 26 genetisch analysiert wurden. Dabei befand sich in der Nachkommenschaft von 4 behandelten P-Männchen mehr als eine Mutation (Gruppenbildung). Drei Gruppen bestanden aus je 2 und eine aus 3 Letalfaktoren. Bei der genetischen Analyse verhielten sich die jeweils zu einer Gruppe gehörenden Mutationen gleich. Von den 4 erhaltenen Gruppen bestanden 2 aus je 2 Punktmutationen, für die die Loci 0,0 und 0,0 bzw. 21,0 und 22,2 ermittelt wurden, eine aus 2 und eine aus 3 Chromosomenmutationen, bei denen in allen Fällen der Austausch in der Region *sc—ct* gestört war. Da die P-Männchen in den Mutationsversuchen nach dem Absetzen der Miracilbehandlung in Abständen von je 3 Tagen immer wieder mit neuen *M-5*-Weibchen gepaart worden waren und alle Gruppen in den späteren Serien aufgetreten waren, läßt die augenscheinliche Identität der Mutationen innerhalb jeder Gruppe den Schluß zu, daß sie ihre Entstehung jeweils einem einzigen Mutationsereignis in einer unreifen Keimzelle verdanken. Deshalb wird im folgenden jede Gruppe als Einzelmutation gewertet. Dadurch vermindert sich die tatsächliche Mutationsrate auf 0,36%. Unter den einzeln aufgetretenen Erbänderungen befand sich eine Chromosomenmutation. Ein anderer Letalfaktor, dessen Locus mit 2,2 ermittelt wurde, zeigte den *Notch*-Effekt und wurde ebenfalls als Chromosomenmutation angesehen. Nach Abzug der 4 Chromosomenmutationen beträgt die Rate der Punktmutationen 0,3%. Der Anteil der Chromosomenmutationen beläuft sich somit auf 19%. Da die spontane Mutationsrate im Stamm „Berlin wild" 0,2% beträgt, dürfte ungefähr die Hälfte der Punktmutationen in den Miracilversuchen spontan entstanden und deshalb der Anteil der Chromosomenmutationen größer als 30% sein. Wenigstens ein Teil der induzierten Mutationen ist in unreifen Keimzellen entstanden. Wenn bei einer so geringen Anzahl von Mutationen auch die Angabe von Prozentzahlen problematisch erscheint, so ist doch das Auftreten von Chromosomenmutationen bei einer Gesamtmutationsrate, die sich nur wenig von der Rate der spontanen Mutabilität unterscheidet, sehr auffällig.

Die Verteilung der 17 letalen Punktmutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms ist auf Tabelle 3 wiedergegeben. Sichtbare Erbänderungen sind mit Ausnahme der erwähnten *Notch*-Mutation nicht aufgetreten.

Tabelle 3. *Verteilung von 17 letalen Punktmutationen aus Versuchen mit Miracil über die genetische Karte des X-Chromosoms.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | 32,7 | | | 49,4 | | | | |
| 0,0 | 6,2 | — | — | 21,2 | 28,8 | 30,8 | 39,5 | — | 48,0 | 53,6 | — | — | 69,3 |

In der Region 0—5 liegen 41,2 ± 11,9% aller Punktmutationen. Die Differenz gegenüber dem entsprechenden Wert aus der Verteilung der durch Neutronenstrahlen induzierten Mutationen (17%) läßt sich wegen des zu kleinen Miracilmaterials nicht statistisch sichern (P = 0,08).

### *4. Durch ein Triazinderivat induzierte Mutationen.*

Die zur Stickstofflostgruppe gehörende Verbindung 2,4,6-Triäthylenimino-1,3,5-Triazin (Triäthylenmelamin, TEM) erwies sich im *Drosophila*-Test als ein hochwirksames Mutagen (H. Lüers 1952, 1953). Aus diesen Mutationsversuchen standen über 300 rezessive geschlechtsgebundene Erbänderungen zur Verfügung, von denen 156 genetisch analysiert wurden. Die Mutationsraten betrugen etwa 4—17%. Die sichtbaren Erbänderungen blieben bei der genetischen Analyse zum größten Teil unberücksichtigt; fast alle erzeugten verschiedene Phänotypen, Gruppenbildung wurde bei diesen nicht beobachtet.

Von den 156 analysierten Chromosomen wiesen 10 (6,4%) genetisch erfaßbare Chromosomenmutationen auf. Sehr ähnlich sind die Ergebnisse von Slizynska und Slizynski (1947) nach Senfgasbehandlung; sie fanden 6,7% Chromosomenmutationen. Burdette und Haddox (1952) erhielten unter 96 nach Stickstofflostbehandlung mutierten Chromosomen 7 (7,3%) mit größeren Strukturveränderungen.

Das analysierte Material enthält 41 Gruppen, nämlich 28 mit je 2, 8 mit je 3, 2 mit je 4, 2 mit je 5 und 1 mit 8 Mutationen. Darunter befinden sich 10 Erbänderungen, die jeweils zu zweit in einem Chromosom liegen. Die Loci der Punktmutationen und die Anzahl der Chromosomenmutationen innerhalb jeder Gruppe sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Die meisten Punktmutationen innerhalb jeder Gruppe liegen in verschiedenen durch die Markierungsgene begrenzten Chromosomenregionen. Die in ein und demselben Chromosom liegenden Mutationen sind in der Tabelle *kursiv gedruckt*. Benachbarte Punktmutationen, deren Verschiedenheit sich nicht durch die Berechnung der mittleren Fehler sicherstellen ließ, sind eingeklammert. Da die P-Männchen wie in den Miracilversuchen in Abständen von 3 Tagen immer mit neuen virginen *M-5*-Weibchen gepaart wurden, erlaubt die zeitliche Verteilung des Auftretens der zu den einzelnen Gruppen gehörenden Mutationen zusammen mit ihrem genetischen Verhalten Rückschlüsse auf die Identität bzw. Verschiedenheit dieser Mutationen. So sind die beiden Erbänderungen des Locus 70,0 der Gruppe Nr. 36 wahrscheinlich identisch. Sie stammen von Spermien, die etwa 3—4 Wochen nach der TEM-Behandlung zur Befruchtung gelangt sind und weisen geringe übereinstimmende Abweichungen ihrer Austauschwerte auf. Die anderen 3 Mutationen der gleichen Gruppe sind

Tabelle 4. *Nach TEM-Behandlung aufgetretene Gruppen rezessiver geschlechtsgebundener Punktmutationen und genetisch erfaßbarer Chromosomenmutationen.*

| | *sc—ec* | *ec—ct* | *ct—v* | *v—g* | *g—f* | *f*—SpA. | Chromosomenmutat. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,0 | | *24,0* | *38,5* | | | |
| 2 | | 15,5 | | 36,3 | 56,7 | | |
| 3 | | | | 40,1 | 54,6 | | |
| 4 | | | 24,5 | | 45,1 | | |
| 5 | | 18,1 | | | | 68,5 | |
| 6 | | | | | | 62,1 | 1 |
| 7 | *0,0* | *19,2* | | (40,1; 40,3) | 48,2 | (61,0; 68,7) | 1 |
| 8 | | | 24,2 | | | 67,3 | 1 |
| 9 | | | | | 48,0 | | 1 |
| 10 | 0,0 | 14,1 | | | | (61,8; 64,7) | |
| 11 | | *19,1* | | 40,7 | | *70,0* | |
| 12 | | 8,0; 18,3 | | | | | |
| 13 | 0,0 | | 28,6 | | | | |
| 14 | 0,8 | | | | 49,8 | | |
| 15 | | | 22,5 | | 49,9 | | |
| 16 | | | | | 41,4 | 66,9 | |
| 17 | | | | | 53,7 | | 1 |
| 18 | | | 22,7; 28,1 | | | | |
| 19 | 0,0 | | | | | 70,0 | |
| 20 | | | | | | 64,4 | 1 |
| 21 | | 14,5 | | 41,2 | | | |
| 22 | 0,0 | | | 37,8 | | | |
| 23 | | | | | (50,2; 56,7) | | |
| 24 | | | | 36,2 | 53,0 | | |
| 25 | 0,0 | | | 37,1 | | 58,0 | |
| 26 | 1,2 | | (26,4; 28,0) | 36,1 | | | |
| 27 | | 12,8 | | | 47,8 | | |
| 28 | | | | | 49,4 | 57,6 | 1 |
| 29 | | | | | | (57,0; 59,1) | |
| 30 | (0,0; 0,3) | | 22,3 | | 50,6 | | 1 |
| 31 | (0,0; 0,6) | | | 44,4 | | | |
| 32 | | 12,3 | 25,9 | | | 63,0 | |
| 33 | 0,0 | 7,2 | | | | | |
| 34 | 2,3 | | | 35,3 | | | |
| 35 | | | | | | 56,9; 63,7 | |
| 36 | | | | | (47,4; 50,2 | (70,0; 70,0) | |
| | | | | | 50,3) | | |
| 37 | | | | | 45,7 | | 1 |
| 38 | 0,0 | | | | | 61,4 | |
| 39 | | 10,8 | | | | 68,4 | |
| 40 | | | *21,8* | *44,0* | | | |
| 41 | | | *21,4; 32,1* | | | | |

In jeder Zeile sind die Mutationen aus der Nachkommenschaft eines P-Männchens zusammengefaßt. Weitere Erläuterungen siehe Text.

ebenfalls miteinander identisch. Sie sind gleichzeitig mit den eben erwähnten aufgetreten und stimmen in ihrem genetischen Verhalten insofern miteinander überein, als es sich hier um Subletalfaktoren mit gleichen phänotypischen Abweichungen der Ausnahmemännchen handelt. Die Mutationen in den Gruppen Nr. 10, 26, 29 und 31 sind dagegen wahrscheinlich unabhängig voneinander entstanden. Die Versuchsergebnisse weisen somit auf eine mutagene Wirkung des untersuchten Triazinderivates auf reife wie auf unreife Keimzellen hin, wenn auch die späteren Entwicklungsstadien gegenüber dem Mutagen empfindlicher zu sein scheinen. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß Auerbach (1951 b) für die

mutagene Wirkung des Formaldehyd auf Grund ähnlicher Ergebnisse eine sensible Periode in den primären Spermatozyten annimmt. Für das untersuchte Triazinderivat stimmt diese Schlußfolgerung weitgehend mit den Resultaten aus den Mutationsversuchen selbst überein (H. Lüers 1953). Auffällig gegenüber den Befunden aus den Miracilversuchen bleibt jedoch, daß sich in keiner der untersuchten Gruppen mehr als eine Chromosomenmutation auffinden ließ.

In der Tabelle 5 ist die Verteilung von 151 analysierten Punktmutationen aus den Triazinversuchen einschließlich aller in Gruppen aufgetretenen Erbänderungen wiedergegeben. Die Mutation des Locus 35,2 (m = ±0,3) ist eine Erbänderung mit rezessiv sichtbarer Wirkung. Sie erzeugt einen ähnlichen Phänotyp wie die bekannte Mutation *miniature* (*m*) des Locus 36,1. Ein Allelietest zwischen beiden Erbänderungen verlief negativ, es zeigte sich aber eine Compound-Wirkung, indem die Flügel der heterozygoten Weibchen gegenüber dem normalen Flügel etwas, wenn auch nicht sehr deutlich, verkürzt waren. Ferner trat eine *white*-Mutation auf, die allel zu dem *white* des Locus 1,5 ist. Eine weitere sichtbare Mutation ist die des Locus 14,5 ±, bei der die Flügel aller hemizygoten Männchen leicht gespreizt und nach oben gebogen sind. Diese Männchen erwiesen sich ebenso wie die der beiden folgenden Subletalfaktoren als steril. Die Loci dieser beiden Subletalfaktoren sind 1,6 ± bzw. 18,3 ±. Im ersten Fall ist das Abdomen der Männchen gedreht, wie es ähnlich von der Mutation *twisted* (Locus 0,4) bekannt ist, im zweiten Fall sind die Flügel der Männchen leicht gespreizt und gewölbt. Bei der

Tabelle 5. *Verteilung von 151 rezessiven Mutationen aus Versuchen mit Triazin über die genetische Karte des X-Chromosoms.*

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,3 | | | | | | | | | | | | | |
| 1,7 | | | | | | | | | | | | | |
| 1,6 | | | | | | | | | | | | | |
| 1,5 | | | | | | | | | | | | | |
| 1,2 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,8 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,8 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,6 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,3 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | |
| 0,0 | | | | | | | | | | | | | 70,0 |
| 0,0 | | | | | | | | | 49,9 | | | 64,7 | 70,0 |
| 0,0 | | | | | | | | | 49,8 | | | 64,7 | 70,0 |
| 0 0 | | | | | | | 39 9 | 44,4 | 49,4 | | 59,1 | 64,4 | 70,0 |
| 0,0 | | | | | | | 38,5 | 44,4 | 49,1 | | 58,1 | 64,2 | 70,0 |
| 0,0 | | 14,9 | 19,2 | 24,5 | | | 38,4 | 44,2 | 48,8 | | 58,0 | 63,7 | 70,0 |
| 0,0 | | 14,5 | 19,1 | 24,2 | | | 37,9 | 44,0 | 48,2 | 54,6 | 57,6 | 63,5 | 70,0 |
| 0,0 | | 14,1 | 19,0 | 24,0 | | | 37,8 | 41,6 | 48,0 | 53,7 | 57,5 | 63,0 | 69,1 |
| 0,0 | | 13,8 | 18,3 | 22,7 | 28,6 | | 37,1 | 41,4 | 47,8 | 53,6 | 57,3 | 62,9 | 68,7 |
| 0,0 | | 13,1 | 18,1 | 22,5 | 28,6 | | 36,3 | 41,2 | 47,7 | 53,0 | 56,9 | 62,1 | 68,5 |
| 0,0 | | 12,8 | 17,9 | 22,3 | 28,1 | | 36,2 | 40,7 | 47,5 | 50,6 | 56,7 | 62,0 | 68,4 |
| 0,0 | 8,0 | 12,5 | 17,9 | 21,8 | 28,0 | 32,8 | 36,1 | 40,6 | 47,5 | 50,3 | 56,7 | 61,8 | 67,3 |
| 0,0 | 7,2 | 12,3 | 15,9 | 21,4 | 26,4 | 32,1 | 35,3 | 40,3 | 45,7 | 50,2 | 56,7 | 61,4 | 66,9 |
| 0,0 | 5,5 | 10,8 | 15,5 | 20,6 | 25,9 | 30,3 | 35,2 | 40,1 | 45,1 | 50,2 | 55,2 | 61,0 | 65,6 |

Erbänderung des Locus 5,5 dürfte es sich um eine deficiency handeln; die Austauschwerte sind normal, aber alle $F_1$-Weibchen der Konstitution $X_{letal}/Xple$ waren phänotypisch *echinus*. Von den aufgefundenen großen Chromosomenmutationen sei eine besonders erwähnt: unter 265 $F_2$R-Weibchen und 127 Männchen traten 22 bzw. 9 Tiere in den Klassen mit doppeltem Austausch auf, während einfache Austauschkombinationen fehlten. Diese Erscheinung legt die Vermutung nahe, daß es sich um ein ringförmiges X-Chromosom handelt.

### IV. Vergleich der Mutationenverteilung nach Triazinbehandlung mit anderen Verteilungen.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, haben mehrere Autoren die Verteilung durch verschiedene Mutagene induzierter Mutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms untersucht. Sie stellten übereinstimmend fest, daß die Punktmutationen in jedem Fall mehr oder weniger gleichmäßig über die ganze Länge des Chromosoms verteilt sind. Wenn keine Unterschiede zwischen den mitgeteilten Verteilungen bestünden, so dürfte ein Vergleich der Einzelverteilungen mit einer aus allen Angaben ermittelten Durchschnittsverteilung, unabhängig von der gewählten Klasseneinteilung, keine statistisch gesicherten Unterschiede ergeben. Ein solcher Vergleich wurde in Tabelle 6 vorgenommen. In keinem Fall bestehen wesentliche Abweichungen von der durchschnittlichen Verteilung; bei anderen Klasseneinteilungen verändert sich das Bild kaum. Die Verteilung der durch TEM induzierten Erbänderungen fügt sich der Durchschnittsverteilung gut ein. Es läßt sich also kein Hinweis auf eine spezifische Wirkung des TEM aus den vorliegenden Daten ableiten. Auch die übrigen in dieser Arbeit mitgeteilten Ergebnisse aus Versuchen mit schnellen Neutronen und mit Miracil geben

Tabelle 6. *Vergleich von Verteilungen rezessiver geschlechtsgebundener Mutationen mit einer aus allen ermittelten Durchschnittsverteilung.*

| Autor, Mutagen | | 0—9,9 | 10—29,9 | 30—49,9 | 50—70,0 | Summe | P |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Muller 1928 | $n$ | 34 | 16 | 17 | 26 | 93 | |
| Röntgenstrahlen | % | 36,6 | 17,2 | 18,3 | 28,0 | 100,1 | |
| | $\chi^2$ | 7,12 | 1,78 | 1,70 | 0,00016 | 10,60 | 0,01 |
| Spencer und Stern 1948 | $n$ | 47 | 63 | 59 | 60 | 229 | |
| Spontan + | % | 20,5 | 27,5 | 25,8 | 26,2 | 100,0 | |
| Röntgenstrahlen | $\chi^2$ | 0,70 | 1,16 | 0,04 | 0,31 | 2,21 | 0,53 |
| Vogt 1950 | $n$ | 23 | 15 | 14 | 16 | 68 | |
| Äthylurethan | % | 33,8 | 22,1 | 20,6 | 23,5 | 100,0 | |
| (nur letale Mutationen) | $\chi^2$ | 3,28 | 0,10 | 0,56 | 0,50 | 4,44 | 0,22 |
| Slizynska und | $n$ | 18 | 24 | 22 | 19 | 83 | |
| Slizynski 1947 | % | 21,7 | 28,9 | 26,5 | 22,9 | 100,0 | |
| Senfgas | $\chi^2$ | 0,09 | 0,88 | 0,07 | 0,70 | 1,74 | 0,63 |
| Burdette und | $n$ | 10 | 21 | 30 | 31 | 92 | |
| Haddox 1952 | % | 10,9 | 22,8 | 32,6 | 33,7 | 100,0 | |
| N-Lost | $\chi^2$ | 5,99 | 0,05 | 1,94 | 1,18 | 9,16 | 0,027 |
| — | $n$ | 34 | 33 | 38 | 46 | 151 | |
| Triazinderivat | % | 22,5 | 21,8 | 25,2 | 30,5 | 100,0 | |
| (TEM) | $\chi^2$ | 0,03 | 0,28 | 0,0003 | 0,42 | 0,73 | 0,86 |
| Summe | $n$ | 166 | 172 | 180 | 198 | 716 | |
| | % | 23,2 | 24,0 | 25,1 | 27,7 | 100,0 | |
| | | | | | $\chi^2_{15}$ = | 28,88 | 0,015 |

keinen Anlaß zu der Annahme einer spezifischen Wirkung dieser Mutagene auf einzelne Loci des X-Chromosoms.

Die niedrigen P-Werte in dem Material von Muller und von Burdette und Haddox beruhen auf Abweichungen in der Region 0—9,9. Es erscheint aber nicht gerechtfertigt, diese Abweichungen im Sinne einer spezifischen Wirkung mutagener Noxen zu deuten: es liegt näher, sie auf die Verwendung verschiedener *Drosophila*-Stämme zurückzuführen.

## V. Diskussion.

Wenn verschiedene Mutagene verschiedene Wirkungsmechanismen besitzen, so sollten diese ihren Niederschlag in entsprechenden Unterschieden in der Qualität oder Quantität der induzierten Mutationen finden. Wenn auch physikalische und chemische Mutagene die gleichen Mutationstypen liefern, scheinen doch, wie eingehende Analysen zeigen, gewisse Unterschiede zu bestehen (Auerbach 1951a). Die aufgefundenen Differenzen in der Häufigkeit großer Chromosomenmutationen nach Bestrahlung mit schnellen Neutronen gegenüber entsprechenden Werten aus Versuchen mit Röntgenstrahlen sind zweifellos reeller Natur, wie z. B. neuerdings von Baker und Von Halle (1954) gezeigt werden konnte. Diese Unterschiede sind aber auf Grund von physikalischen Unterschieden zwischen beiden Strahlenarten verständlich.

Ein Vergleich der Häufigkeiten großer Chromosomenmutationen nach Behandlung mit einem Triazinderivat, dem Triäthylenmelamin, mit Senfgas (Slizynska und Slizynski 1947) und Stickstofflost (Burdette und Haddox 1952) zeigt eine auffallende Übereinstimmung, indem sich die Werte in jedem Falle um 7% bewegen. Eine neuere Mitteilung von Fahmy und Fahmy (1953) deutet jedoch auf eine Konzentrationsabhängigkeit sowohl der Punkt- als auch der Chromosomenmutationsraten nach Triazinbehandlung hin. Bezüglich der Rate der geschlechtsgebundenen Letalmutationen nach Triazineinwirkung ergibt sich aus den Versuchen von H. Lüers (1953) der gleiche Hinweis. Der Anteil der Chromosomenmutationen an den durch Miracil induzierten Erbänderungen ist offenbar wesentlich höher als nach Behandlung mit anderen chemischen Mutagenen.

Spezifische Mutationen im Sinne einer erhöhten Mutabilität eines einzigen oder einiger weniger Loci sind bisher, abgesehen von den schon diskutierten Befunden Hadorns und seiner Mitarbeiter (1949), bei vielzelligen Organismen überhaupt noch nicht bekanntgeworden. Es erhebt sich angesichts dieser Sachlage die Frage, ob und in welchem Umfang spezifische Wirkungen verschiedener Mutagene zu erwarten sind und ob die üblichen Versuchsanordnungen für den Nachweis einer spezifischen Mutationsauslösung geeignet sind.

Besondere Beachtung verdienen in diesem Zusammenhang neuere Untersuchungen von Demerec und seinen Mitarbeitern (1952) an *Escherichia coli* über die Rückmutationsrate einzelner Gene unter dem Einfluß verschiedener Mutagene. An einem Bakterienstamm, der 2 Mutationen zugleich enthielt, von denen die eine die Leucin-, die andere die Phenylalaninsynthese unterbrach, wurden mit Manganchlorid und UV-Strahlen Rückmutationen induziert. Dabei war die Rückmutationsrate des Leucin-Gens bei Manganchlorideinwirkung höher, die Rückmutationsrate des Phenylalanin-Gens dagegen bei UV-Einwirkung. Aus

diesen und ähnlichen Ergebnissen schließen Demerec und seine Mitarbeiter, "that various mutants respond differently to different mutagenic agents".

Die heutigen Vorstellungen über den Aufbau des genetischen Materials (z. B. Butenandt 1953) weisen eher auf quantitative als auf qualitative Unterschiede im Aufbau der einzelnen Gene hin. Nimmt man willkürlich an, ein bestimmtes chemisches Strukturelement, das mit einem bestimmten Mutagen in spezifischer Weise zu reagieren vermag, sei nur in $^1/_{10}$ aller Loci eines Chromosoms vorhanden bei einer einigermaßen gleichmäßigen Verteilung, so ergibt sich für das X-Chromosom von *Drosophila melanogaster* folgendes Bild: Die Anzahl der Loci dieses Chromosoms wird auf etwa 726 geschätzt (Herskowitz 1950), die genetische Länge beträgt etwa 70 Austauscheinheiten. Folglich ist jenes bestimmte Strukturelement in jeder Austauscheinheit etwa einmal vertreten. Dann müssen bei unseren recht groben Lokalisationsmethoden auch die spezifisch induzierten Mutationen etwa gleichmäßig über die ganze Länge der genetischen Karte des Chromosoms verteilt sein.

Weiterhin ist in Betracht zu ziehen, daß den Mutagenen möglicherweise eine zweifache Wirkungsweise zukommt. Ionisierende Strahlungen wirken nicht nur direkt, sondern sicher auch indirekt, etwa durch Erzeugung chemischer Mutagene, z. B. von Peroxyden. Ebenso wirken wahrscheinlich die chemischen Mutagene nicht nur direkt auf das genetische Material ein, sondern reagieren mit anderen Zellbestandteilen und setzen dabei sekundär auf das genetische Material einwirkende Energien frei. Handelt es sich dabei um geringe Energiebeträge, die gerade die Aktivierungsenergie für bestimmte Mutationsschritte erreichen, könnte eine „spezifische" Mutationswirkung eintreten, ist die freiwerdende Energie größer, kann sie unspezifische Mutationen auslösen und so die spezifische Wirkung des Mutagens verschleiern. Zum Nachweis der spezifischen Wirkung eines Mutagens erscheint daher die bisher geübte Lokalisationsmethode zu grob. Sie müßte verfeinert werden durch die Untersuchung der Mutationsraten einzelner Gene. Ist die mutagene Wirkung einer Substanz bei einer bestimmten Applikationsform sichergestellt, wäre eine Erfassung und Analyse der Mutationen eines bestimmten Chromosomenabschnittes mit Hilfe des Kreuzungstestes geeignet. Diese Methode stößt aber gerade bei den geschlechtsgebundenen Letalmutationen von *Drosophila* auf noch nicht überwindbare Schwierigkeiten.

## Zusammenfassung.

1. Die Ergebnisse der genetischen Analysen spontaner und nach Behandlung mit schnellen Neutronen, Miracil und einem Triazinderivat aufgetretener Mutationen werden mitgeteilt.

2. Die Untersuchung von letalen Mutationen des X-Chromosoms, die nach Behandlung mit schnellen Neutronen aufgetreten waren, ergab im wesentlichen Übereinstimmung mit Daten aus anderen Untersuchungen über die Wirkung ionisierender Strahlungen.

3. Miracil löst offenbar relativ häufiger Chromosomenmutationen aus als andere bisher untersuchte Mutagene. Wenigstens ein Teil der Mutationen wird in den unreifen Keimzellen der behandelten Männchen induziert.

4. Das untersuchte Triazinderivat Triäthylenmelamin (TEM) scheint vorwiegend auf die späten Entwicklungsstadien der Spermiogenese einzuwirken.

5. Der Vergleich verschiedener in der Literatur mitgeteilter Verteilungen untereinander und mit der Verteilung der Mutationen aus den Triazinversuchen liefert keinen deutlichen Anhaltspunkt für die Existenz abweichender Verteilungen von einer Durchschnittsverteilung.

6. Möglichkeiten der Auslösung spezifischer Mutationen und die Unzulänglichkeit der gebräuchlichen Lokalisationsmethoden für den Nachweis einer spezifischen Wirkung mutagener Noxen im *Drosophila*-Test werden diskutiert.

Für die Anregung dieser Arbeit und wertvolle Ratschläge möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Lüers meinen herzlichsten Dank aussprechen.

## Literatur.

Auerbach, C.: Induction of changes in genes and chromosomes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 199—213 (1951a). — Some recent results with chemicals mutagens. Hereditas (Lund) **37**, 1—16 (1951b). — Auerbach, C., and H. Moser: The effect of oxygen concentration on the mutagenic action of mustard gas. Experientia (Basel) **7**, 341 (1951). — Auerbach, C., J. M. Robson and J. G. Carr: The chemical production of mutations. Science (Lancaster, Pa.) **105**, 243—247 (1947). — Baker, W. K., and E. Von Halle: The production of dominant lethals in *Drosophila* by fast neutrons from cyclotron irradiation and nuclear detonations. Science (Lancaster, Pa.) **119**, 46—49 (1953). — Bridges, C. B., and K. S. Brehme: The mutants of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution of Washington, Publ. 552, 1944. — Burdette, W. J., and C. H. Haddox: Analysis of lethals occurring after chemical treatment. DIS **26**, 93—94 (1952). — Butenandt, A.: Biochemie der Gene und Genwirkungen. Naturwiss. **40**, 91—100 (1953). — Demerec, M., E. M. Witkin, E. L. Labrum, I. Galinsky, J. Hanson, H. Monsees, and T. H. Fethersten: Bacterial genetics. Carnegie Institution of Washington Year Book **51**, 183—233 (1952). — Fahmy, O. G., and M. J. Fahmy: The effect of dose on mutagenicity and chromosome breakage induced by 2:4:6-tri(ethyleneimino)-1:3:5 triazine. DIS **27**, 89 (1953). — Fano, U.: Experiments on mutations induced by neutrons in *Drosophila melanogaster* sperms. Genetics **29**, 361—369 (1944). — Gönnert, R.: Zur Frage des Wirkungsmechanismus von Miracil. Naturwiss. **34**, 347 (1947). — Hadorn, E.: Begriffe und Termini zur Systematik der Letalfaktoren. Arch. Klaus-Stiftg **24**, 105—113 (1949). — Hadorn, E., S. Rosin u. G. Bertani: Ergebnisse der Mutationsversuche mit chemischer Behandlung von *Drosophila*-Ovarien in vitro. Proc. 8. int. Congr. Genet. Hereditas (Lund) Suppl. **1949**, 256—266. — Herskowitz, I. H.: An estimate of the number of loci in the X chromosome of *D. melanogaster*. Amer. Naturalist **84**, 255—260 (1950). — Lüers, H.: The mutagenic action of a nitrogen mustard compound fed to imagines. DIS **26**, 108—109 (1952). — Untersuchung zur Frage der Mutagenität des Kontaktinsektizids DDT an *Drosophila melanogaster*. Naturwiss. **40**, 293 (1953). — Untersuchung über die Mutagenität des Triäthylenmelamin (TEM) an *Drosophila melanogaster*. Arch. Geschwulstforsch. **6**, 77—83 (1953). — Muller, H. J.: The problem of genic modification. Verh. 5. Kongr. für Vererb., 1927. Z. Vererbgslehre Suppl. **1**, 234—260 (1928). — Some present problems in the genetic effects of radiation. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **35**, Suppl. 1, 9—70 (1950). — Slizynska, H., and B. M. Slizynski: Genetical and cytological studies of lethals induced by chemical treatment in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh **62**, 234—242 (1947). — Spencer, W. P., and C. Stern: Experiments of test the validity of the linear r-dose mutation frequency relation in *Drosophila* at low dosage. Genetics **33**, 43—74 (1948). — Timoféeff-Ressovsky, N. W.: Zur Frage der Beziehungen zwischen strahlenausgelösten Punkt- und Chromosomenmutationen bei *Drosophila*. Chromosoma **1**, 310—316 (1939). — Timoféeff-Ressovsky, N. W., u. K. G. Zimmer: Neutronenbestrahlungsversuche zur Mutationsauslösung an *Drosophila melanogaster*. Naturwiss. **26**, 362—365 (1938). — Vogt, M.: Analyse durch Äthylurethan bei *Drosophila* induzierter Mutationen. Z. Vererbgslehre **83**, 324—340 (1950).

Dr. H. J. Belitz, Berlin-Dahlem,
Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie,
Ehrenbergstr. 26—28.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 86, S. 185—209 (1954).

Aus dem Institut für Medizin und Biologie (Direktor: Prof. Dr. W. Friedrich),
Abteilung für Genetik (Leiter: Prof. Dr. H. Lüers),
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

# GENETISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR DDT-RESISTENZ AN *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Von

Veronika Bochnig.

Mit 9 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 11. Mai 1954.)*

## A. Einleitung.

Bereits vor Jahrzehnten wurde beobachtet, daß gewisse Schadinsekten gegen Gifte, mit denen sie jahrelang erfolgreich bekämpft worden waren, eine mehr oder weniger starke Widerstandsfähigkeit entwickelt hatten. Die Insektenpopulationen hatten sich im Laufe der Behandlungen und Generationen in ihrer erblichen Konstitution so verändert, daß sie auf die Vernichtungsmittel nicht mehr in der ursprünglichen Stärke ansprachen. Diese Erscheinung, die früher auf einzelne Regionen beschränkt blieb, nahm in der Schädlingsbekämpfung große Ausmaße an nach Anwendung der erst so erfolgreichen modernen Kontaktinsektizide. Das erste von der Industrie entwickelte Kontaktgift, das in größtem Maße praktische Anwendung fand, das DDT, zeigte auch die ersten Versager in der Wirksamkeit. So berichtet Harrison (1950) über DDT-resistente Stubenfliegen, die im Jahre 1946 zum ersten Male auftraten. Seit dieser Zeit erfolgten in jedem Jahre mehrere Veröffentlichungen, die über giftresistente Stämme von Stubenfliegen berichteten. Aber auch Mücken, Küchenschaben, Zecken und andere Schädlinge erwiesen sich schließlich gegen die in der Praxis angewandten Dosen von DDT als unempfindlich. Es ist dabei besonders bemerkenswert, daß die Resistenz gegen Kontaktinsektizide schon oft nach verhältnismäßig kurzer Zeit, etwa 1—2 Jahre nach der erstmaligen Anwendung des Giftes, in Erscheinung trat[1]. Von verschiedenen Seiten ist auf die Notwendigkeit hingewiesen worden, die Ursachen dieser Erscheinung eingehend zu analysieren. Nur dann können auch Maßnahmen ausgearbeitet werden, um neu auftretenden Mißerfolgen in der Bekämpfung wirksam zu begegnen bzw. diese von vornherein durch geeignetere Bekämpfungsmethoden zu verhüten.

Die Erscheinung dieser erblichen Widerstandsfähigkeit wird auch als „echte Resistenz" (oder Toleranz) bezeichnet. In den folgenden Kapiteln soll der Einfachheit halber nur von „Resistenz" gesprochen werden. Im Gegensatz dazu steht die hier nicht interessierende „Pseudoresistenz". Sie umfaßt alle jene Versagerfälle, die auf nichterblicher Basis beruhen, wie z. B. unsachgemäße Anwendung der Mittel, Einfluß klimatischer Faktoren auf die Giftbeläge, geringere Wirksamkeit der Gifte im Insektenkörper bei erhöhten Temperaturen usw. Die

[1] Zusammenfassende Arbeiten über Resistenzerscheinungen liegen vor von Smith (1941), Quayle (1943), Babers (1949), Harrison (1950) und Monro (1951).

hier gemeinte Resistenz kann verschiedene Grade haben, sie ist fast stets relativ, bezogen auf den Empfindlichkeitsgrad einer bestimmten sensiblen Vergleichsgruppe.

Für die Ausbildung der Insektenresistenz sind zwei Erklärungsmöglichkeiten in Betracht gezogen worden. Erstens könnte eine Änderung des Erbgutes eintreten über eine individuelle „Gewöhnung" auf Grund physiologischer Reaktionen im begifteten Insekt. Diese Möglichkeit konnte weitgehend ausgeschlossen werden durch den Nachweis, daß Fliegen, die generationenlang unter DDT-Dauereinwirkung in subletalen Dosen standen, ihren Sensibilitätsgrad nicht vermindert hatten (LÜERS, unveröff.).

Die zweite Möglichkeit der Erklärung besteht in der Annahme des DARWINschen Selektionsprinzips. Es wird seit langem die Auffassung vertreten, daß allgemein bei der Entstehung von Resistenz gegenüber Insektengiften Selektionsvorgänge an einem genetisch heterogenen Material eine hervorragende Rolle spielen, wobei das verwendete Gift die Rolle des selektiven Agens spielt. Zusätzlich kann durch das Auftreten von Neumutationen dieser Selektionsvorgang beschleunigt bzw. der Resistenzgrad erhöht werden. Nach dieser Auffassung handelt es sich bei der Entwicklung der Insektenresistenz um Auslesevorgänge innerhalb der bekämpften Schädlingspopulationen. In diesem Falle müssen von vornherein einzelne erblich mehr oder weniger resistente Individuen in der Population vorhanden sein, die bei Einwirkung der Gifte im Vorteil sind und in relativ höherem Maße zur Fortpflanzung gelangen als die empfindlichen Tiere. Auf diese Weise vermehrt sich die Zahl der Resistenten von einer Generation zur anderen, während die Sensiblen in der Population abnehmen. Daß außerdem verschieden empfindliche Rassen der gleichen Art vorkommen, konnte von BOCHNIG (1951), TSUKAMOTO und OGAKI (1953) und KIKKAWA, OGAKI und TSUKAMOTO (1953) gezeigt werden. Danach weisen einige Wildstämme und Mutationsrassen von *Drosophila melanogaster* bei einer ersten DDT-Einwirkung unterschiedliche Resistenzgrade auf.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit einigen genetischen Problemen aus diesem Gebiet in bezug auf die Resistenz gegenüber dem Kontaktgift DDT bei *Drosophila melanogaster*. Im Schrifttum liegen bisher nur wenige Arbeiten vor über den zeitlichen Verlauf und das Ausmaß von Resistenzentwicklungen in der Generationenfolge nach Selektion unter definierten experimentellen Bedingungen und an einem genetisch weitgehend definierten Material. Weiterhin wird von verschiedenen Autoren auch in bezug auf die DDT-Resistenz die Frage verschieden beantwortet, ob die von einer Population im Laufe der Behandlungen und Generationen erreichte Widerstandsfähigkeit nach Absetzen des Mittels erhalten bleibt oder wieder abklingt. Untersuchungen von BRUCE (1950) und BRUCE und DECKER (1950) ergaben, daß Stubenfliegen eines resistenten Stammes nach 34 Generationen währender Aufzucht in DDT-freiem Milieu ihre Resistenz beibehalten hatten. Dagegen berichten KEIDING und VAN DEURS (1949) über DDT-resistente Stubenfliegenstämme aus Dänemark, die bereits 9 Generationen nach Ausbleiben der DDT-Einwirkung in ihrem Resistenzgrad abgefallen waren, jedoch nicht bis zur normalen Empfindlichkeitsstufe. Auch amerikanische resistente Stubenfliegenstämme (BARBER und SCHMITT 1949, zit. nach HARRISON 1950) und zwei italienische Fliegenstämme (HARRISON 1950) zeigten nach Unter-

brechung der Gifteinwirkung während mehrerer Generationen einen deutlichen Resistenzabfall. Über den Vererbungsmodus der Resistenz wurden mehrere Untersuchungen an verschiedenen Insektenarten und in bezug auf verschiedene Gifte durchgeführt. Hough (1934) fand, daß von zwei Stämmen des Apfelwicklers *Carpocapsa pomonella* die Larven des einen Stammes die Fähigkeit hatten, sich in arsenbehandelte Äpfel einzubohren. Hough kreuzte diese beiden Stämme reziprok miteinander. Die Nachkommen dieser Kreuzungen zeigten über 10 Generationen ein intermediäres Verhalten gegenüber den Eltern. Dabei war die Kreuzungsrichtung für das Resultat bedeutungslos. Die Rückkreuzungen der $F_1$ führten zu einem Anstieg in der Fähigkeit, sich in gespritzte Äpfel einzubohren, wenn der zur Rückkreuzung benutzte Elter vom resistenten Stamm kam, dagegen zu einem Absinken, wenn der Rückkreuzungselter vom sensiblen Stamm geliefert wurde. Dickson (1941) kreuzte zwei kalifornische Stämme der roten Schildlaus *Aonidiella aurantii* miteinander, von denen der eine Resistenz gegen Blausäurevergasung zeigte. Die $F_1$-Weibchen lieferten einen Mittelwert in den Absterberaten im Vergleich zu den Elterntieren. Dabei war die Kreuzungsrichtung wiederum ohne Einfluß. Die beiden $F_1$-Gruppen wurden sodann 1. direkt weitergezüchtet und 2. reziprok miteinander gekreuzt, so daß also vier verschiedene $F_2$-Gruppen resultierten. Die Testwerte dieser Weibchen waren gegenüber dem intermediären Resistenzgrad der $F_1$-Tiere erhöht bzw. erniedrigt, je nach der Empfindlichkeitsstufe, der die Großmütter väterlicherseits angehörten. Dickson schließt daraus auf einen geschlechtsgebundenen Erbgang und nimmt ein für Resistenz verantwortliches Gen bzw. eine Gruppe gekoppelter Gene im X-Chromosom an, da der Geschlechtsbestimmungsmechanismus bei *Aonidiella aurantii* wahrscheinlich dem *Drosophila*-Typus folgt. Bruce (1950) und Bruce und Decker (1950) züchteten DDT-resistente Stubenfliegenstämme. Bei Kreuzung mit sensiblen Weibchen und Männchen ergaben sich wiederum unabhängig von der Kreuzungsrichtung intermediär reagierende $F_1$-Bastarde. Die Resistenz soll von einer Vielzahl von Genen gesteuert werden. Oppenoorth und Dresden (1953) und Dresden und Oppenoorth (1953) züchteten Stämme von *Drosophila melanogaster*, die Resistenz gegen $\gamma$-HCCH zeigten. Die Resistenz erwies sich im Kreuzungsexperiment als kernbedingt und zeigte einen unvollständig dominanten Erbgang. Es handelt sich wahrscheinlich um eine durch mehrere Faktoren verursachte Eigenschaft, da kein Chromosom für die gesamte Resistenz verantwortlich gemacht werden konnte. Ein größerer Effekt wird lediglich dem II. Chromosom zugeschrieben. Tsukamoto und Ogaki (1953) konnten durch Kreuzungen zwischen dem resistenten Fukuoka-Stamm und dem sensiblen Canton-S-Stamm von *D. melanogaster* den dominanten Charakter der Eigenschaft „DDT-Resistenz" nachweisen und ermittelten ebenfalls ein dafür verantwortliches Hauptgen (oder eine Gruppe gekoppelter Gene) im II. Chromosom nahe Lokus 70. In einer anderen Untersuchung (Ogaki und Tsukamoto 1953) konnten die Autoren für den resistenten Hikone-Stamm ein im II. Chromosom gelegenes Gen in der Nähe von *scabrous* (II-66.7) für die Resistenz verantwortlich machen. In diesem Zusammenhang ist eine Mitteilung von Oshima (1953) von Interesse. Dieser Autor untersuchte Stämme von *D. virilis* auf ihre DDT-Resistenz und fand solche mit hoher und niedriger Empfindlichkeit. Es wird hier ein Hauptgen des V. Chromosoms für die Resistenz verantwortlich gemacht, wobei das V. Chromosom von

*D. virilis* dem rechten Schenkel des II. Chromosoms von *D. melanogaster* homolog sein soll. CROW und SMITH (1952) berichten von einem DDT-resistenten *D. melanogaster*-Stamm, dessen Resistenzfaktoren in den Autosomen gelegen sein sollen, doch wurde eine genaue Analyse noch nicht durchgeführt. KING (1953) selektionierte den Laboratoriumsstamm „Oregon-R" und einen Wildstamm „Syosset" auf DDT-Resistenz. Die aus dem Oregon-R-Stamm gezüchteten Linien entwickelten jedoch keine Resistenz. Eine resistente Syosset-Linie wurde mit sensiblen Kontrolltieren gekreuzt und ergab in der $F_1$ einen intermediären Grad der Resistenz, während die $F_2$ nur den Empfindlichkeitsgrad der Kontrolltiere aufwies.

## B. Material und Methoden.

Als Material für unsere Versuche benutzten wir den seit über 20 Jahren im Laboratorium gezüchteten Stamm „Berlin wild" von *Drosophila melanogaster* und einen kurz vor Versuchsbeginn eingefangenen zweiten Wildstamm von *D. melanogaster* aus dem zum hiesigen Institut gehörenden Park. Von ihm wurden 10 Pärchen gefangen und vor Beginn der eigentlichen Versuche einige Generationen lang als Massenkultur gezüchtet, ehe sie als 1. Generation für die Versuche Verwendung fanden. Dieser Fliegenstamm wird im folgenden als „Park"-Stamm bezeichnet.

Die Zucht und Haltung der für die Versuche benutzten Fliegenstämme und der Kontrollen erfolgte unter Normalbedingungen. Für die Versuche wurden Fliegen aus Kulturen benutzt, in denen zwei Elternpaare in den ersten Generationen 3, später 2 Tage lang zwecks Eiablage belassen wurden. Die Aufzucht der Fliegen erfolgte bei der für *D. melanogaster* optimalen Temperatur von 25° C.

Die Begiftung der Fliegen geschah in Petrischalen, die in einem Teil der Versuche mit dem Handelspräparat Duolit der Firma Sapotex, Chemnitz, in dem sich keine Beimischungen anderer Insektizide befanden, in den übrigen Versuchen mit DDT-Acetonlösung begiftet waren. Es wurden 25 mg bzw. 50 mg reines kristallines DDT vom Schmelzp. 107,5° C in 1 Liter Aceton reinst (Siedep. 56 bis 58° C) gelöst. Von diesen Lösungen wurden mittels vollautomatischer Meßbürette 2 $cm^3$ auf jede Schalenhälfte (Durchmesser 9 cm) gegeben und durch Schwenken ein gleichmäßiger Giftbelag erzielt. Die Schalen wurden über Nacht offen stehengelassen, um ein völliges Verdunsten des Lösungsmittels zu erreichen. Es waren somit 100 bzw. 200 $\gamma$ DDT auf jeder Petrischale verteilt. Die Begiftung mit Duolit erfolgte durch gleichmäßiges Verreiben von 2 Tropfen der Lösung mit einem Wattebausch auf jeder Schalenhälfte.

Die Selektion und die Empfindlichkeitstestungen wurden in Zimmertemperaturen, deren Werte zwischen 19 und 22° C lagen, vorgenommen. An einzelnen Tagen erhöhte sich die Temperatur bis auf 25° C, doch haben diese Ausnahmetage keinen Einfluß auf die Gesamtwerte.

Für die Versuche wurden nur Imagines der Altersgruppen 19—25 Std und 1—19 Std benutzt. Die Altersangaben beziehen sich dabei auf den Beginn der Gifteinwirkung. Es wurden je 5 Weibchen und 5 Männchen der jeweiligen Altersgruppe in eine begiftete Petrischale gesetzt und nach verschiedener Dauer der Gifteinwirkung die Überlebensraten ermittelt durch Auszählen der überlebenden Individuen. Als „überlebend" wurden solche Fliegen bezeichnet, die sich noch nicht in dauernder Rückenlage befanden. Dieses Verfahren der Unterscheidung

hat sich in unseren Test- und Selektionsversuchen als hinreichend genau erwiesen. Weibchen und Männchen wurden in allen Versuchen getrennt bewertet. Nach Beendigung der Testzeit wurden aus jeder Generation 20—25 Paare mit den geringsten Vergiftungssymptomen aus der Gruppe der 19—25 Std alten Individuen selektioniert und weitergezogen. Die Weibchen dieser Altersgruppe waren unbefruchtet; sie waren sofort nach dem Schlüpfen von den Männchen isoliert worden.

Orientierende Vorversuche ergaben, daß Tiere gleichen Alters und gleichen Geschlechts aus dem „Berlin wild"-Stamm sich voneinander in der Giftempfindlichkeit gegenüber DDT unterscheiden, indem ein Teil der Fliegen relativ schnell, ein anderer weniger rasch Vergiftungssymptome aufweist und einzelne Fliegen sogar sehr spät einen Einfluß der Giftwirkung erkennen lassen. Es besteht ein allmählicher Übergang von den empfindlichen zu den weniger empfindlichen Individuen. Wir haben in unseren Versuchen den Grad der Giftempfindlichkeit unseres normalen „Berlin wild"-Stammes als Maßstab gewählt und bezeichnen alle Stämme als resistent, die eine signifikante positive Differenz in Richtung auf höhere Überlebensraten zu diesem Kontrollstamm aufweisen.

Mit dem Stamm „Berlin wild" wurden 2 Selektionsversuche durchgeführt, die als I. und II. Selektionsreihe bezeichnet werden. Die Selektion wurde bei den ersten 21 Generationen der I. Selektionsreihe und den ersten 3 Generationen der „Park"-Rasse nach 3 Std und in den folgenden Generationen nach 4 Std Gifteinwirkung durchgeführt. Die II. Selektionsreihe wurde von der $F_1$ an 4 Std begiftet. Später wurde die Giftexposition bei allen Gruppen auf 7 bzw. 9 Std ausgedehnt und danach selektioniert. Außerdem wurden die Fliegen von der 2. bis zur 9. Std nach Beginn der Gifteinwirkung stündlich getestet. In späteren Generationen gestaltete sich die Auslese der unempfindlichsten Fliegen schwierig, da ein großer Prozentsatz der Tiere ohne Vergiftungssymptome blieb.

## C. Versuchsergebnisse.

### 1. Selektionsversuche.

#### *a) Der Stamm „Berlin wild".*

*I. Selektionsreihe.* Es handelt sich bei diesen Fliegen um einen Stamm, der bereits seit über 20 Jahren im Laboratorium gezüchtet wird, und es besteht die Wahrscheinlichkeit, daß er in dieser Zeit in einem großen Teil seiner Erbmasse homogen geworden ist. Andererseits können sich in Laboratoriumszuchten durch spontane Mutation entstandene neue Allele halten und verbreiten, die in der freien Natur für die Merkmalsträger schädlich wären und durch die natürliche Selektion wieder ausgemerzt würden. Es kann also damit gerechnet werden, daß sich dieser Laboratoriumsstamm genetisch in vieler Hinsicht von einem frisch eingefangenen Wildstamm unterscheidet.

Die Anzahl der exponierten und getesteten Fliegen je Generation betrug mindestens 200, erreichte aber oft den Wert 800—1000. Die Begiftung dieser Selektionsreihe erfolgte bis zur $F_{34}$ mit Duolit. Ab $F_{35}$ wurde die Begiftung mit DDT-Acetonlösung, und zwar 100 $\gamma$ DDT je Petrischale, durchgeführt, von der $F_{43}$ an wurden 200 $\gamma$ DDT je Petrischale verwendet. Die ersten 22 Generationen wurden 3 Std, $F_{23}$ bis $F_{42}$ 4 Std der Gifteinwirkung ausgesetzt. Die Begiftungszeit wurde von der 43. Generation an auf 7 Std, von der $F_{53}$ an auf 9 Std

erhöht. Insgesamt wurden in dieser Selektionsreihe 80 Generationen der Selektion unterworfen und getestet, die Fliegen der jungen Altersgruppe wurden bis zur 70. Generation nur auf ihre Sensibilität geprüft. Während der ganzen Zeit der Untersuchungen wurden gleichaltrige und der gleichen Behandlungsart unterworfene, aber nicht selektionierte Kontrollfliegen des Ausgangsstammes „Berlin wild" mitgetestet, die in den Tabellen und Abbildungen mit dem Buchstaben „K" bezeichnet werden. Der „Berlin wild"-Stamm der I. Selektionsreihe erhielt die Bezeichnung „S I".

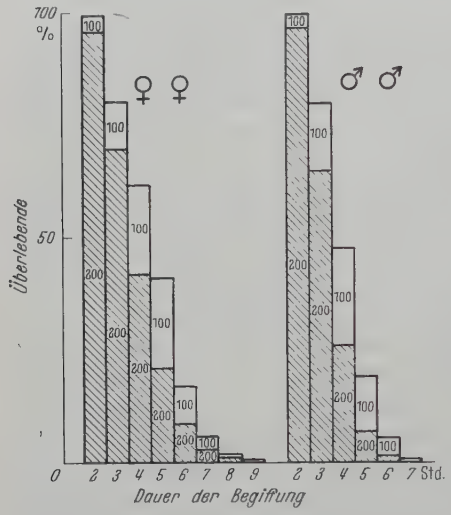



Abb. 1. Überlebensraten 19—25 Std alter Kontrollfliegen nach Gifteinwirkung von 100 bzw. 200 $\gamma$ DDT je Petrischale.

Abb. 1 gibt einen Einblick in die unterschiedliche Wirkung der einfachen und doppelten Giftmenge (100 und 200 $\gamma$ DDT je Petrischale) auf die Überlebensraten der Kontrolltiere. Es treten bei den mittleren Begiftungszeiten erhebliche Differenzen auf, doch ist der Zeitpunkt, an dem eine 100%ige Abtötung erzielt wird, bei beiden Giftmengen gleich oder fast gleich.

Die zwischen dem Selektionsstamm und den Kontrollen bei gleicher Gifteinwirkung jeweils sich ergebenden Differenzen in den Überlebensraten sind mit einer fehlerstatistischen Auswertung in den Tabellen 1a und b eingetragen. Auf diese Weise kann der Resistenzanstieg innerhalb der gesamten Selektionsreihe dargestellt werden ohne Berücksichtigung der Anwendung verschiedener Giftmengen und der dadurch bedingten veränderten Absterberaten. Werte für die mittlere Lebensdauer wurden nicht errechnet, da es wegen der langen Überlebenszeiten in den späteren Generationen

Tabelle 1a. *Resistenzanstieg nach Selektion bei Duolitbegiftung (bis $F_{35}$) und 200 $\gamma$ DDT je Petrischale (ab $F_{51}$). Vergleich der Überlebensraten 19—25 Std alter Weibchen der I. Selektionsreihe (S I) und des Kontrollstammes (K) nach 3stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Weibchen | | Prozentsatz der überlebenden Weibchen | | $D$ | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S I | K | S I | K | | | |
| 1— 5 | 1063 | 113 | 40,3 | 38,9 | 0,014 | 0,048 | 0,3 |
| 6—10 | 982 | 109 | 58,6 | 55,0 | 0,036 | 0,0498 | 0,7 |
| 11—15 | 574 | 98 | 96,0 | 83,7 | 0,123 | 0,025 | 4,9 |
| 16—20 | 388 | 104 | 92,0 | 75,0 | 0,170 | 0,035 | 4,8 |
| 21—25 | 309 | 121 | 90,0 | 75,2 | 0,148 | 0,037 | 4,0 |
| 26—30 | 126 | 101 | 95,3 | 79,2 | 0,161 | 0,043 | 3,7 |
| 31—35 | 180 | 95 | 83,9 | 65,3 | 0,186 | 0,053 | 3,5 |
| 51—55 | 289 | 1515 | 100,0 | 69,5 | 0,305 | 0,028 | 11,0 |
| 56—60 | 494 | | 99,6 | | 0,301 | 0,023 | 13,3 |
| 61—65 | 346 | | 99,7 | | 0,302 | 0,026 | 11,5 |
| 66—70 | 297 | | 100,0 | | 0,305 | 0,028 | 11,0 |
| 71—75 | 117 | | 100,0 | | 0,305 | 0,043 | 7,1 |
| 76—80 | 184 | | 100,0 | | 0,305 | 0,035 | 8,8 |

nicht möglich war, die Selektionsreihen durchgehend bis zum Ende der Lebensdauer zu testen. Die Werte für Weibchen und Männchen sowie für die beiden Altersgruppen sind in den Tabellen getrennt dargestellt. Außerdem sind je 5 Generationen zusammengefaßt.

In der Tabelle 1a sind die Differenzen in den Prozentsätzen der Überlebensraten zwischen 19—25 Std alten Weibchen der Selektionsreihe (S I) und des Kontrollstammes (K) nach 3stündiger Gifteinwirkung dargestellt. Tabelle 1b gibt das gleiche für die Männchen wieder. Zwischen der 36. und 50. Generation wurden die Fliegen erst von der 4. Std der Gifteinwirkung an getestet, so daß für diese Generationen keine Berechnungen in den Tabellen 1a und b enthalten sind. Daß sich gerade in diesen Generationen noch ein deutlicher Resistenzanstieg bemerkbar macht, wird später an den Überlebensraten nach 4stündiger Gifteinwirkung gezeigt werden. Die Überlebensraten des Kontrollstammes für die Testungen ab $F_{50}$ wurden zusammengefaßt, da seine während der einzelnen Generationen des S I-Stammes erhaltenen Testwerte keine Differenzen untereinander aufweisen. Die etwas höheren Absterberaten der Generationen 31—35 sind auf stärkere Begiftung mit Duolit zurückzuführen. Es sind davon jedoch gleichermaßen die Absterbeziffern des S I-Stammes und des Kontrollstammes betroffen, so daß sich die Differenz zwischen beiden den vorangehenden Werten anschließt.

Tabelle 1b. *Resistenzanstieg nach Selektion bei Duolitbegiftung (bis $F_{35}$) und 200 γ DDT je Petrischale (ab $F_{51}$). Vergleich der Überlebensraten 19—25 Std alter Männchen der I. Selektionsreihe (S I) und des Kontrollstammes (K) nach 3stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Männchen | | Prozentsatz der überlebenden Männchen | | $D$ | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S I | K | S I | K | | | |
| 1— 5 | 1069 | 105 | 23,7 | 21,9 | 0,018 | 0,043 | 0,4 |
| 6—10 | 972 | 108 | 37,7 | 34,3 | 0,034 | 0,038 | 0,9 |
| 11—15 | 568 | 101 | 92,4 | 73,2 | 0,192 | 0,033 | 5,8 |
| 16—20 | 409 | 95 | 83,1 | 70,6 | 0,125 | 0,046 | 2,7 |
| 21—25 | 360 | 110 | 88,3 | 70,8 | 0,175 | 0,040 | 4,4 |
| 26—30 | 130 | 121 | 86,2 | 70,2 | 0,160 | 0,053 | 3,0 |
| 31—35 | 176 | 88 | 75,0 | 59,0 | 0,160 | 0,060 | 2,7 |
| 51—55 | 288 | 1494 | 99,0 | 64,6 | 0,344 | 0,029 | 11,8 |
| 56—60 | 485 | | 99,4 | | 0,348 | 0,023 | 15,1 |
| 61—65 | 344 | | 100,0 | | 0,354 | 0,027 | 13,1 |
| 66—70 | 322 | | 100,0 | | 0,354 | 0,028 | 12,6 |
| 71—75 | 120 | | 99,2 | | 0,346 | 0,044 | 7,9 |
| 76—80 | 79 | | 100,0 | | 0,354 | 0,054 | 6,6 |

In den Testergebnissen der aufeinanderfolgenden Generationen zeigten sich im Anfang ungerichtete Schwankungen. Obwohl eine Tendenz zu einer Abnahme der Giftempfindlichkeit zu erkennen war, konnte ihr noch keine reelle Bedeutung zugesprochen werden, da auch der Kontrollstamm in den Paralleltestungen höhere Überlebensraten aufwies. Die fehlerkritische Betrachtung der Ergebnisse ergab erst von der 11. Generation an gesicherte Differenzen gegenüber den gleichzeitig getesteten Kontrollen, jedoch vorerst nur in der Altersgruppe von 19—25 Std. Die Überlebensraten des Selektionsstammes stiegen in den folgenden Generationen weiter an. Wegen der hohen Überlebensraten in späteren Generationen war es dann auch nach 4stündiger Gifteinwirkung kaum noch möglich,

weitere Selektion zu betreiben. Es stellte sich ein Stillstand in der Resistenzsteigerung von der 14. bis etwa zur 35. Generation ein. Erst nach Benutzung der DDT-Acetonlösung von 100 $\gamma$ DDT je Petrischale setzte wieder ein deutlicher Anstieg der Überlebensraten ein, der nach der Verdoppelung der Giftmenge auf 200 $\gamma$ DDT je Petrischale und Verlängerung der Selektionsdauer auf 7 Std ab $F_{43}$ noch stärker in Erscheinung trat. Von der 66. Generation an konnte kein Resistenzanstieg mehr festgestellt werden.

Tabelle 2. *Resistenzanstieg nach Selektion bei Duolitbegiftung (bis $F_{29}$)und 200 $\gamma$ DDT je Petrischale ($F_{66}$ bis $F_{70}$). Vergleich der Überlebensraten 1—19 Std alter Fliegen der I. Selektionsreihe (S I) und des Kontrollstammes (K) nach 3stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Weibchen | | Prozentsatz der überlebenden Weibchen | | $D$ | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S I | K | S I | K | | | |
| 1— 5 | 1420 | 166 | 16,6 | 16,2 | 0,004 | — | — |
| 11—15 | 675 | 140 | 65,8 | 66,4 | 0,006 | — | — |
| 29 | 144 | 110 | 83,3 | 65,4 | 0,179 | 0,053 | 3,4 |
| 66—70 | 175 | 1216 | 100,0 | 44,0 | 0,560 | 0,040 | 14,0 |
| | Getestete Männchen | | Prozentsatz der überlebenden Männchen | | | | |
| | S I | K | S I | K | | | |
| 1— 5 | 1420 | 110 | 17,9 | 17,3 | 0,006 | — | — |
| 11—15 | 675 | 148 | 77,5 | 69,0 | 0,085 | 0,039 | 2,2 |
| 29 | 150 | 127 | 85,3 | 66,9 | 0,184 | 0,053 | 3,5 |
| 66—70 | 188 | 1256 | 99,5 | 55,3 | 0,442 | 0,038 | 11,6 |

Für die Altersgruppe der 1—19 Std alten Fliegen sind die Differenzwerte zwischen dem Selektionsstamm und den dazugehörenden Kontrollen für die Generationen 1—5, 11—15, 29 und 66—70 in der Tabelle 2 dargestellt. Im Vergleich zu der älteren Gruppe ergibt sich noch kein Unterschied zwischen Selektions- und Kontrollweibchen in den Generationen 11—15. Bei den Männchen ist ein geringer Unterschied vorhanden. $F_{29}$ zeigt in beiden Geschlechtern gesicherte Differenzen der Überlebensraten und die Generationen 66—70 weisen wie die ältere Gruppe große Unterschiede auf.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Dauer der Gifteinwirkung von der $F_{43}$ an auf 7, von der $F_{53}$ an auf 9 Std ausgedehnt wurde, um eine strengere Selektion betreiben zu können. Die Differenzen zwischen S I und K in der älteren Gruppe nach 7stündiger Gifteinwirkung sind in der Tabelle 3 wiedergegeben. Die 7-Std-Werte wurden angegeben, da zu dieser Zeit die Differenzen zwischen dem SI- und K-Stamm bei den beiden Geschlechtern und Altersgruppen schon höhere Werte erreicht haben; die Kontrollen sind zu dieser Zeit noch nicht voll abgestorben (Überlebenswerte K-♀♀: 2,5%, K-♂♂: 0,1%). Nach noch längerer Begiftungszeit nehmen die Differenzen zwischen S I und K ab, da die Kontrollwerte dann gleichbleibend 0% betragen und die Werte der Selektionsreihe ständig geringer werden. Eine Betrachtung der Tabelle 3 ergibt, daß sowohl im weiblichen als auch im männlichen Geschlecht nach Erhöhung der Giftdosis von 100 $\gamma$ auf 200 $\gamma$ DDT je Petrischale ein weiterer Anstieg in den Überlebensraten festgestellt werden kann, und zwar bis zur 66. Generation. Danach bleiben die Werte auf konstanter Höhe stehen.

Tabelle 3. *Resistenzanstieg nach Selektion bei 200 γ DDT je Petrischale. Vergleich der Überlebensraten 19—25 Std alter Fliegen der I. Selektionsreihe (S I) und des Kontrollstammes (K) nach 7stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Weibchen | | Prozentsatz der überlebenden Weibchen | | $D$ | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S I | K | S I | K | | | |
| 43—45 | 269 | 1510 | 65,1 | 2,5 | 0,626 | 0,021 | 30,0 |
| 46—50 | 481 | | 82,1 | | 0,796 | 0,021 | 37,9 |
| 51—55 | 581 | | 90,0 | | 0,875 | 0,021 | 41,7 |
| 56—60 | 424 | | 92,9 | | 0,904 | 0,023 | 39,3 |
| 61—65 | 324 | | 92,3 | | 0,898 | 0,024 | 37,4 |
| 66—70 | 293 | | 98,0 | | 0,955 | 0,024 | 39,8 |
| 71—75 | 114 | | 98,2 | | 0,957 | 0,028 | 34,2 |
| 76—80 | 184 | | 93,0 | | 0,905 | 0,025 | 36,2 |
| | Getestete Männchen | | Prozentsatz der überlebenden Männchen | | | | |
| | S I | K | S I | K | | | |
| 46—50 | 557 | 1481 | 34,8 | 0,1 | 0,347 | 0,015 | 23,1 |
| 51—55 | 551 | | 38,8 | | 0,387 | 0,016 | 24,1 |
| 56—60 | 429 | | 45,5 | | 0,454 | 0,017 | 26,7 |
| 61—65 | 331 | | 59,8 | | 0,597 | 0,020 | 29,8 |
| 66—70 | 313 | | 64,9 | | 0,648 | 0,020 | 32,4 |
| 71—75 | 117 | | 75,2 | | 0,751 | 0,022 | 34,1 |
| 76—80 | 153 | | 67,1 | | 0,670 | 0,021 | 31,9 |

Um den Verlauf des Resistenzanstiegs in den Generationenfolgen besonders deutlich zu machen, wurden die Differenzen zwischen S I und K, die nach 3-, 4- und 7stündiger Testzeit auftraten, in der Abb. 2 graphisch dargestellt. Die Testwerte bis $F_{21}$ entstammen der 3stündigen, von $F_{22}$ bis $F_{35}$ der 4stündigen Selektionsdauer mit Duolit. Ab $F_{36}$ wurden 100 $\gamma$ DDT je Petrischale bei 4stündiger Selektionsdauer verwandt, ab $F_{43}$ 200 $\gamma$ DDT bei 7stündiger, ab $F_{53}$ bei 9stündiger Selektionszeit. Besonders nach der längeren Gifteinwirkung von 4 und 7 Std zeigen sich große Unterschiede in den Absterberaten zwischen dem selektionierten Stamm und den Kontrollen.

Für die Generationen 71—80 der I. Selektionsreihe wurde der Selektionsvorteil $\delta$ für 19—25 Std alte Weibchen und Männchen berechnet. Er beträgt für die Weibchen 0,909, für die Männchen 0,719. Demnach verhält sich die Vernichtungswahrscheinlichkeit (VW) des Kontrollstammes zu der VW des Selektionsstammes S I wie 1000:91 (♀♀) bzw. 1000:281 (♂♂). Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Weibchen des Selektionsstammes bei DDT-Einwirkung ist also 11mal höher als die der Kontrollweibchen, die der Männchen $3^1/_2$mal höher gegenüber den Männchen des Kontrollstammes. Außerdem besagen diese Zahlen, daß die Weibchen des Selektionsstammes einen höheren Resistenzgrad erreichen als die Männchen.

Aus den Abb. 3 und 4, die den gesamten Vergiftungsverlauf des Kontrollstammes und der letzten untersuchten Generationen des Selektionsstammes während der 9stündigen DDT-Einwirkung wiedergeben, ist der Einfluß des Geschlechts und des Alters auf den Sensibilitätsgrad zu entnehmen. Es ist daraus zu ersehen, daß mit zunehmender Dauer der Gifteinwirkung die Unterschiede in den Überlebensraten zwischen den Weibchen und den Männchen des Selektions-

stammes in beiden Altersgruppen zunehmen. Dagegen sterben von den älteren Kontrollfliegen in den ersten 2 Std der Giftexposition etwas mehr Weibchen als Männchen, zwischen der 2. und 3. Std überschneiden sich die Werte, und die Überlebenskurve der Männchen bleibt dann bis zum Ende unterhalb der Weibchenkurve. Bei den jüngeren Kontrolltieren finden sich in der 2. und 3. Std der Gifteinwirkung gesichert höhere Überlebensraten im männlichen Geschlecht. Nach der 4. Std sinken die Werte der Männchen dann gering unter die der Weibchen ab.

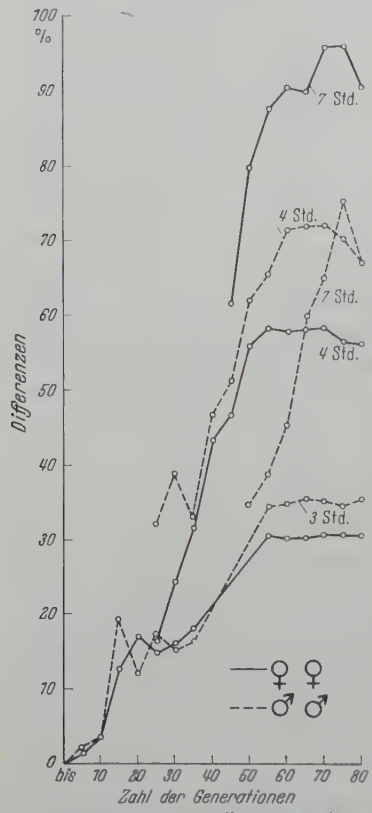



Abb. 2. Differenzen der Überlebensraten zwischen 19—25 Std alten Fliegen der I. Selektionsreihe und den Kontrollen nach 3-, 4- und 7stündiger Gifteinwirkung (Erläuterung s. Text). Die Kurvenpunkte stellen zusammengefaßte Differenzwerte von je 5 Generationen dar.

Ein Vergleich der beiden Altersgruppen ergibt eine höhere Giftempfindlichkeit der jüngeren Fliegen des Selektions- und der jüngeren Weibchen des Kontrollstammes. Bei den Kontrollmännchen ist kein Unterschied vorhanden. Die Differenzen zwischen den beiden Altersgruppen nehmen im Selektionsstamm mit längerer Expositionsdauer zu, während sie im Kontrollstamm abnehmen. Sie erreichen in beiden Stämmen bei den Weibchen erheblich höhere Werte als bei den Männchen.

*II. Selektionsreihe.* Der gleiche Ausgangsstamm „Berlin wild", von dem die I. Selektionsreihe abgeleitet wurde und der auch das Material für die Kontrollen lieferte, wurde noch ein zweites Mal der Selektion unterworfen. Die Begiftung der Petrischalen erfolgte hier von der 1. Generation an mit DDT-Acetonlösung. Die Giftmenge betrug zu Beginn des Versuches 100 $\gamma$ DDT je Petrischale. Es wurden wieder 19—25 Std und 1—19 Std alte Fliegen getestet und die ältere Gruppe, für die nur unbefruchtete Weibchen verwendet wurden, 4 Std der Selektion unterworfen. Alle Fliegen dieser Selektionsreihe wurden von der 2. Std der Gifteinwirkung an bis zum Ende der Selektionszeit stündlich getestet. Das Material dieser Versuchsserie ist bezüglich der Zahl der Fliegen nicht so umfangreich wie das der I. Selektionsreihe. Es wurden insgesamt 60 Generationen untersucht.

Die Ergebnisse dieser Selektionsreihe sind in der Abb. 5 dargestellt. Die Kurvenpunkte geben die Anzahl der Überlebenden in Prozent an. In den ersten 4 Generationen zeigten sich bei den Männchen in den Überlebensraten der aufeinanderfolgenden Generationen größere Schwankungen als normalerweise üblich. In der $F_5$ ergab etwa die Hälfte der Fliegen besonders hohe Überlebensraten, während der andere Teil die Werte der vorangehenden Generationen beibehielt. Die Fliegen mit den hohen Überlebensraten wurden fortan als Gruppe a

bezeichnet und getrennt von den restlichen Fliegen (Gruppe b) getestet und selektioniert.

Die Gruppe a wurde von der $F_6$ an 8 Std lang der Gifteinwirkung ausgesetzt. In der Abb. 5 sind jedoch die Testwerte nach 4stündiger Gifteinwirkung bis zur

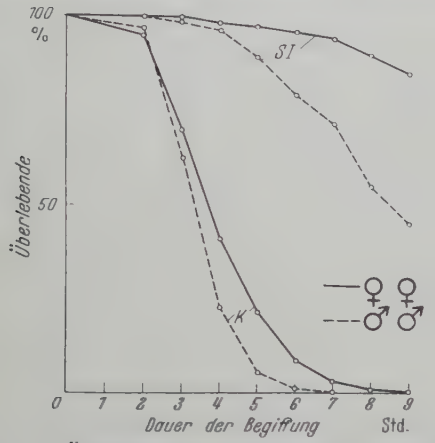



Abb. 3. Überlebensrate 19—25 Std alter Fliegen der I. Selektionsreihe (S I) (Generationen 71—80) und des Kontrollstammes (K) während der 9stündigen Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale.

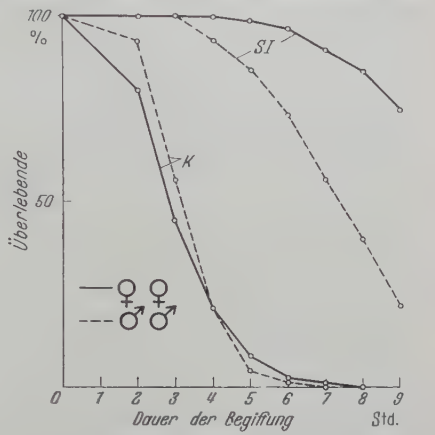



Abb. 4. Überlebensraten 1—19 Std alter Fliegen der I. Selektionsreihe (S I) (Generationen 66—70) und des Kontrollstammes (K) während der 9stündigen Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale.

$F_{26}$ eingetragen. Sie zeigen, daß nach 4 Std keine Auslese mehr betrieben werden konnte. Aber auch nach der verlängerten Selektionsdauer von 8 Std waren die Überlebensquoten noch sehr hoch. Sie betrugen bei den Weibchen etwa 95%,

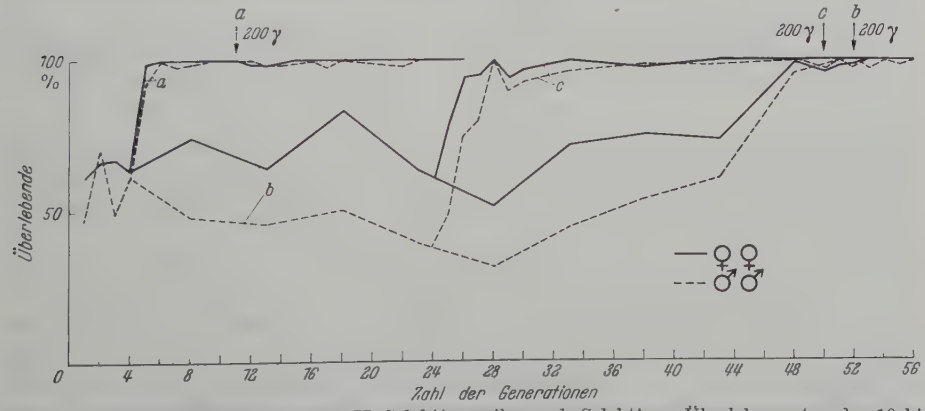



Abb. 5. Anstieg der Resistenz in der II. Selektionsreihe nach Selektion. Überlebensraten der 19 bis 25 Std alten Fliegen aus den Gruppen a, b und c nach 4stündiger Gifteinwirkung.

bei den Männchen etwa 75%. Die Giftmenge wurde deshalb von der 11. Generation an auf 200 $\gamma$ DDT je Petrischale verdoppelt und die Giftexposition auf 9 Std ausgedehnt. Die dadurch bedingte intensivere Auslese hatte bei den Weibchen keine Wirkung — die Überlebensraten, die nach 9 Std Gifteinwirkung ermittelt wurden, blieben von der $F_{11}$ bis zur $F_{55}$ konstant um 90% — während bei den Männchen von der 11. bis zur 14. Generation noch eine geringe Steigerung von 59 auf 65% erzielt werden konnte.

Der Selektionsvorteil $\delta$ gegenüber den Kontrollen beträgt bei den Weibchen der Gruppe a ($F_{22}$ bis $F_{26}$) 0,947, bei den Männchen 0,908. Auf 1000 getötete Kontrollfliegen kommen also 53 vernichtete Weibchen bzw. 92 tote Männchen. In bezug auf die Endwerte der I. Selektionsreihe unterscheiden sich die der Gruppe a der II. Selektionsreihe besonders im männlichen Geschlecht durch deutlich höhere Überlebensraten. Die fehlerkritische Betrachtung der Unterschiede zwischen den Selektionsreihen I und IIa nach Beendigung ihres Resistenzanstiegs, der durch übereinstimmende Giftapplikation (200 $\gamma$ DDT je Petrischale, 9 Std) hervorgerufen war, ergibt bei den Weibchen schwach, bei den Männchen gut gesicherte Unterschiede. Die Quotienten zwischen der Differenz der Mittelwerte beider Selektionsreihen und deren mittlerer Abweichung betragen 2,1 (♀♀) und 6,3 (♂♂).

Die Gruppe b der II. Selektionsreihe wurde weiterhin in jeder Generation selektioniert. Wie aus der Abb. 5 zu ersehen ist, änderte sich der Grad ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber DDT bis zur 24. Generation nicht. In der $F_{25}$ trat wiederum eine Anzahl Fliegen auf, die sich durch höhere Überlebensraten auszeichnete. Sie wurde als Gruppe c bezeichnet. Eine Verlängerung der Giftexpositionszeit hatte in dieser Gruppe in den weiteren Generationen (bis $F_{42}$) eine Resistenzsteigerung zur Folge. Ab $F_{50}$ wurde durch eine Verdoppelung der Giftmenge auf 200 $\gamma$ DDT je Petrischale infolge des stärkeren Selektionsdruckes noch eine geringfügige Erhöhung der Toleranz beobachtet. Der Selektionsvorteil $\delta$ gegenüber dem Kontrollstamm beträgt für die Generationen 55—59 bei den Weibchen der Gruppe c 0,885, für die Männchen 0,750. Das entspricht einer VW der Kontrollfliegen zu der VW der Gruppe c von 1000 : 115 (♀♀) bzw. 1000 : 250 (♂♂).

Die Überlebensraten der Gruppe b blieben bis zur $F_{41}$ im Bereich der Überlebensquoten der Kontrollfliegen. Darauf erfolgte ein Anstieg bis zur 48. Generation. Der Selektionsvorteil der Gruppe b berechnet sich bei Einwirkung von 100 $\gamma$ DDT je Petrischale für die Generationen 47—50 auf 0,821 (♀♀) und 0,626 (♂♂).

Die Testungen der II. Selektionsreihe zeigen wieder den Unterschied in der Empfindlichkeit der Geschlechter und der beiden Altersgruppen. Weibchen vertragen die Begiftung besser als Männchen, ältere Weibchen besser als jüngere.

### *b) Der Freilandstamm „Park".*

Das äußere Erscheinungsbild der „Park"-Fliegen wies einige Unterschiede gegenüber dem Laboratoriumsstamm „Berlin wild" auf. Die „Park"-Fliegen waren etwas kleiner und nicht so stark pigmentiert. Die Männchen hatten keine schwarzen, sondern graue Abdominalringe und auch ihr Hinterleibsende war nur grau gefärbt. Die „Park"-Rasse zeichnete sich zudem durch größere Lebhaftigkeit aus.

Der Erbanlagenbestand des „Park"-Stammes ist wahrscheinlich heterogener als der des Laboratoriumsstammes. Es ist aber andererseits anzunehmen, daß er durch die natürlichen Umweltbedingungen zugleich einer schärferen Selektion unterworfen wurde, so daß besonders solche Allele in seinem Erbanlagenbestand erwartet werden können, die die Vitalität der Fliegen günstig beeinflussen. Wie weit solche die Vitalität fördernden Allele aber eine Beziehung zur Reaktion gegen

Tabelle 4. *Resistenzanstieg nach Selektion bei Duolitbegiftung. Vergleich der Überlebensraten 19—25 Std alter Fliegen des „Park"-Stammes (SP) und des Kontrollstammes (K) nach 3stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Weibchen | | Prozentsatz der überlebenden Weibchen | | $D$ | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S P | K | S P | K | | | |
| 1 | 230 | 221 | 75,7 | 75,2 | 0,005 | — | — |
| 2 | 181 | | 91,2 | | 0,160 | 0,042 | 3,8 |
| 3 | 225 | | 84,9 | | 0,097 | 0,044 | 2,2 |
| 10 | 68 | 127 | 100,0 | 79,6 | 0,204 | 0,051 | 4,0 |
| | Getestete Männchen | | Prozentsatz der überlebenden Männchen | | | | |
| | S P | K | S P | K | | | |
| 1 | 205 | 110 | 65,9 | 70,8 | 0,049 | — | — |
| 2 | 192 | | 83,3 | | 0,125 | 0,048 | 2,6 |
| 3 | 190 | | 74,2 | | 0,034 | — | — |
| 10 | 58 | 145 | 89,7 | 70,4 | 0,193 | 0,066 | 2,9 |

DDT besitzen, das in den Versuchen als neuer Umweltfaktor auftritt, kann nicht abgeschätzt werden.

Die Behandlung der Fliegen war die gleiche wie in den bisherigen Selektionsversuchen. Insgesamt wurden von diesem Stamm 60 Generationen der Selektion unterworfen. Als Kontrollstamm für diese Versuchsreihe diente ebenfalls der sensible Ausgangsstamm „Berlin wild", da sich die 1. Generation des „Park"-Stammes in ihren Überlebensraten nicht von ihm unterschied. Die Selektionsreihe des „Park"-Stammes (S P) zeigte jedoch bereits in den ersten selektionierten Generationen eine fortlaufende Abnahme der Sensibilität. In der Tabelle 4 sind die Überlebensraten der 19—25 Std alten Weibchen und Männchen des „Park"-Stammes und der Kontrollfliegen nach 3stündiger Gifteinwirkung gegenübergestellt. Besonders im weiblichen Geschlecht zeigen sich schon in den ersten Generationen gesicherte Differenzen gegenüber den Kontrollen. Bei den 1 bis 19 Std alten Individuen (Tabelle 5) ist nach 3stündiger Begiftung dagegen erst in späteren Generationen ein Unterschied zu den Kontrolltieren festzustellen, wie es auch schon die I. Selektionsreihe gezeigt hatte.

Tabelle 5. *Resistenzanstieg nach Selektion bei Duolitbegiftung. Vergleich der Überlebensraten 1—19 Std alter Fliegen des „Park"-Stammes (S P) und des Kontrollstammes (K) nach 3stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Weibchen | | Prozentsatz der überlebenden Weibchen | | $D$ | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S P | K | S P | K | | | |
| 1 | 268 | 140 | 73,5 | 66,4 | 0,071 | — | — |
| 3 | 161 | | 74,5 | | 0,081 | — | — |
| 10 | 70 | 110 | 91,4 | 65,4 | 0,260 | 0,065 | 4,0 |
| | Getestete Männchen | | Prozentsatz der überlebenden Männchen | | | | |
| | S P | K | S P | K | | | |
| 1 | 262 | 148 | 71,8 | 69,0 | 0,028 | — | — |
| 3 | 159 | | 71,7 | | 0,027 | — | — |
| 10 | 74 | 127 | 94,6 | 66,9 | 0,277 | 0,064 | 4,3 |

Von der $F_4$ an wurde die Giftexposition auf 4 Std heraufgesetzt. Der weitere Anstieg der Resistenz bis zur $F_{22}$ ist in der Tabelle 6 eingetragen. Es wurden jeweils 3 Generationen zusammengefaßt. Nach der 14. Generation trat ein Stillstand im Resistenzanstieg ein, da wegen der hohen Überlebensraten praktisch keine Selektion mehr durchgeführt werden konnte. Die Verdoppelung der Gift-

Tabelle 6. *Resistenzanstieg nach Selektion bei Duolitbegiftung (bis $F_{12}$) und 100 γ DDT je Petrischale (ab $F_{14}$). Vergleich der Überlebensraten 19—25 Std alter Fliegen des „Park"-Stammes (SP) und des Kontrollstammes (K) nach 4stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Weibchen | | Prozentsatz der überlebenden Weibchen | | D | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | SP | K | SP | K | | | |
| 4—6 | 642 | 153 | 79,6 | 54,9 | 0,247 | 0,025 | 6,3 |
| 7—9 | 638 | | 89,2 | | 0,343 | 0,035 | 9,8 |
| 12 | 38 | | 100,0 | | 0,451 | 0,086 | 5,2 |
| 14—16 | 494 | 161 | 98,0 | 44,7 | 0,533 | 0,032 | 16,7 |
| 17—19 | 315 | | 96,1 | | 0,514 | 0,036 | 14,3 |
| 20—22 | 351 | | 97,7 | | 0,530 | 0,034 | 15,6 |
| | Getestete Männchen | | Prozentsatz der überlebenden Männchen | | | | |
| | SP | K | SP | K | | | |
| 4—6 | 628 | 133 | 65,8 | 32,3 | 0,335 | 0,047 | 7,1 |
| 7—9 | 566 | | 82,3 | | 0,500 | 0,043 | 11,6 |
| 12 | 36 | | 97,2 | | 0,649 | 0,094 | 6,9 |
| 14—16 | 484 | 164 | 93,8 | 38,4 | 0,544 | 0,036 | 15,4 |
| 17—19 | 319 | | 94,4 | | 0,560 | 0,041 | 13,6 |
| 20—22 | 343 | | 94,5 | | 0,561 | 0,040 | 14,0 |

Tabelle 7. *Resistenzanstieg nach Selektion bei 200 γ DDT je Petrischale. Vergleich der Überlebensraten 19—25 Std alter Fliegen des „Park"-Stammes (SP) und des Kontrollstammes (K) nach 7stündiger Gifteinwirkung.*

| F | Getestete Weibchen | | Prozentsatz der überlebenden Weibchen | | D | $\sigma_D$ | $D/\sigma_D$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | SP | K | SP | K | | | |
| 26—30 | 769 | 1510 | 83,9 | 2,5 | 0,814 | 0,021 | 38,7 |
| 31—35 | 630 | | 90,2 | | 0,877 | 0,021 | 41,7 |
| 36—40 | 565 | | 96,6 | | 0,941 | 0,023 | 40,8 |
| 41—45 | 512 | | 98,8 | | 0,963 | 0,023 | 41,8 |
| 46—50 | 411 | | 98,8 | | 0,963 | 0,023 | 41,8 |
| 51+55 | 94 | | 97,8 | | 0,953 | 0,035 | 27,2 |
| 56—60 | 359 | | 98,1 | | 0,956 | 0,024 | 39,9 |
| | Getestete Männchen | | Prozentsatz der überlebenden Männchen | | | | |
| | SP | K | SP | K | | | |
| 26—30 | 816 | 1481 | 55,9 | 0,1 | 0,558 | 0,017 | 32,8 |
| 31—35 | 657 | | 61,4 | | 0,613 | 0,018 | 34,1 |
| 36—40 | 605 | | 76,8 | | 0,767 | 0,021 | 36,5 |
| 41—45 | 519 | | 89,4 | | 0,893 | 0,021 | 42,5 |
| 46—50 | 394 | | 93,2 | | 0,931 | 0,023 | 40,5 |
| 51+55 | 90 | | 94,5 | | 0,944 | 0,025 | 37,7 |
| 56—60 | 405 | | 95,8 | | 0,957 | 0,023 | 41,6 |

menge auf 200 $\gamma$ DDT je Petrischale und gleichzeitige Verlängerung der Selektionszeit auf 7 Std ab $F_{26}$ und auf 9 Std ab $F_{38}$ hatte dann, wie schon in der I. Selektionsreihe, einen weiteren Abfall der Sensibilität bei dem „Park"-Stamm zur Folge. In der Tabelle 7 sind die Differenzen zwischen den „Park"-Fliegen und den Kontrollen nach 7stündiger Begiftung eingetragen. Bis zur $F_{42}$ war ein deutlicher Resistenzanstieg festzustellen. Dann änderten sich die Überlebensraten bis zur 60. Generation nicht mehr. Der nach gleicher Giftapplikation wie in der I. und II. Selektionsreihe erreichte Selektionsvorteil $\delta$ gegenüber dem Kontrollstamm beträgt für die Generationen 56—60 der S P-Weibchen 0,961, für die S P-Männchen 0,958. Der Resistenzgrad der „Park"-Rasse ist also dem der Gruppe a der II. Selektionsreihe ähnlich, während er sich von dem der I. Selektionsreihe und der Gruppe c der II. Selektionsreihe durch höhere Werte unterscheidet.

### 2. Sensibilitätsuntersuchungen der Selektionsstämme nach Unterbrechung der Selektion.

Eine Gruppe des resistenten „Berlin wild"-Stammes der I. Selektionsreihe und des „Park"-Stammes wurden von der 51. bzw. 31. Generation an ohne DDT-Exposition weitergezüchtet. Dabei wurden die aufeinanderfolgenden Generationen auf ihre Sensibilität geprüft. Die Testungen wurden an 19—25 Std und 1—19 Std alten Fliegen auf Petrischalen mit 200 $\gamma$ DDT vorgenommen.

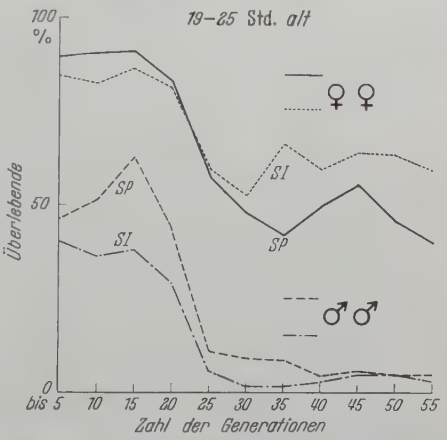



Abb. 6. Abfall der Resistenz im S I- und S P-Stamm nach Abbruch der Selektion, ermittelt nach 7stündiger Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale. Die Überlebensraten von je 5 Generationen wurden zusammengefaßt.

Die Ergebnisse nach 7stündiger Gifteinwirkung sind in der Abb. 6 eingetragen. Es wurden stets die Werte von 5 Generationen zusammengefaßt. In den ersten 15 Generationen verlaufen die Prozentzahlen der Überlebenden in demselben Bereich, doch schon die Generationen 16—20 lassen einen geringen Abfall im Resistenzgrad erkennen, der sich bis zur 25. Generation rapide fortsetzt. In den nächsten 5 Generationen ist die Verminderung der Überlebensraten gering und es zeigt sich in den letzten untersuchten 25 Generationen ($F_{31}$ bis $F_{55}$) keine weitere Abnahme der Überlebensquoten. Die Testungen der 1—19 Std alten Fliegen wurden nach der 20. Generation abgebrochen. Ihre Werte verlaufen parallel zu der älteren Gruppe mit ebenfalls abfallender Tendenz in den Überlebensraten der letzten 5 getesteten Generationen ($F_{15}$ bis $F_{20}$). Weder vom „Park"-Stamm noch von der I. Selektionsreihe wurden dabei die zugehörigen Werte des Kontrollstammes (2,5% ♀♀, 0,1% ♂♂) erreicht.

### 3. Kreuzungen zwischen empfindlichen und unempfindlichen Stämmen.

In einer weiteren Versuchsreihe sollte geprüft werden, welchem Erbmodus die Eigenschaft „Resistenz gegenüber DDT" folgt. Dazu wurden zunächst reziproke Kreuzungen zwischen Individuen aus den Generationen 53—58 der

I. Selektionsreihe und Kontrolltieren durchgeführt. Obwohl die Fliegen der Generationen 53—58 in ihrem Resistenzgrad, wie sich später zeigte, noch gesteigert werden konnten, sind die Kreuzungsergebnisse jedoch gesichert, da erst fast 20 Generationen nach Aufhören der Selektion mit einem Absinken der Resistenz gerechnet werden kann, wie sich aus dem vorigen Abschnitt ergibt. Die $F_1$-Fliegen wurden sodann mit allen 4 Elterngruppen rückgekreuzt, so daß 8 verschiedene $F_2R$-Gruppen resultierten. An Hand eines Schemas werden die durchgeführten Kreuzungen erläutert (Abb. 7).

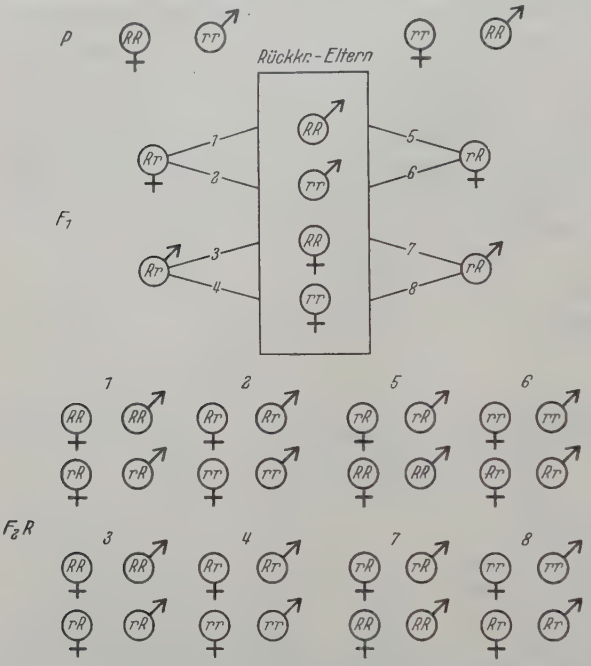



Abb. 7. Kreuzungsschema zur Ermittlung und Darstellung des Vererbungsmodus der DDT-Resistenz bei *Drosophila*. *RR* bezeichnet den Erbanlagenbestand der Resistenten, *rr* den der Sensiblen.

Es wurden wieder 19 bis 25 Std und 1—19 Std alte Fliegen von der 2. bis zur 9. Std der Gifteinwirkung getestet. Die Giftmenge betrug 200 $\gamma$ DDT je Petrischale. In der Tabelle 8 sind die Überlebensprozentsätze der Ausgangstiere (SI und K), der $F_1$- und $F_2R$-

Tabelle 8. *Vergleich der nach 4- und 7stündiger Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale ermittelten Überlebensraten 19—25 Std alter Fliegen der I. Selektionsreihe (S I), des Kontrollstammes (K), der reziproken $F_1$-Kreuzungen und der 8 $F_2R$-Kreuzungen.*

| Stamm bzw. Kreuzung | Getestete Fliegen | | Überlebende in % nach 4 Std | | Überlebende in % nach 7 Std | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀ | ♂♂ |
| S I | 619 | 609 | 99,5 | 96,2 | 94,0 | 48,2 |
| K | 316 | 340 | 42,4 | 22,9 | 5,1 | 0,0 |
| (S I × K) $F_1$ | 337 | 296 | 97,3 | 68,6 | 62,5 | 8,5 |
| (K × S I) $F_1$ | 207 | 211 | 98,6 | 81,0 | 66,3 | 9,2 |
| $\Sigma$ $F_1$ | 544 | 507 | 97,8 | 73,8 | 63,9 | 8,8 |
| (S I × K)♀ × S I♂ | 113 | 104 | 99,1 | 91,3 | 84,1 | 22,1 |
| (S I × K)♂ × S I♀ | 116 | 110 | 100,0 | 88,2 | 86,2 | 25,5 |
| (K × S I)♀ × S I♂ | 125 | 111 | 99,2 | 91,0 | 76,0 | 26,1 |
| (K × S I)♂ × S I♀ | 121 | 97 | 99,2 | 93,8 | 85,1 | 33,0 |
| $\Sigma$ $F_2R_S$ | 475 | 422 | 99,4 | 91,1 | 82,7 | 26,6 |
| (S I × K)♀ × K♂ | 125 | 122 | 86,4 | 59,0 | 24,8 | 0,8 |
| (S I × K)♂ × K♀ | 120 | 111 | 80,0 | 44,1 | 35,8 | 2,7 |
| (K × S I)♀ × K♂ | 144 | 166 | 86,1 | 53,6 | 32,6 | 2,4 |
| (K × S I)♂ × K♀ | 161 | 149 | 78,9 | 51,0 | 29,8 | 3,4 |
| $\Sigma$ $F_2R_K$ | 550 | 548 | 82,7 | 52,2 | 30,7 | 2,4 |

Fliegen nach 4- und 7stündiger Gifteinwirkung für 19—25 Std alte Tiere eingetragen, Tabelle 9 zeigt das gleiche für die junge Altersgruppe. Es ist daraus ersichtlich, daß das Ergebnis der Kreuzungen unabhängig davon ist, ob die Mutter oder der Vater von dem resistenten Stamm geliefert wurden. Auch die $F_2R$-Ergebnisse sind davon unabhängig. Es konnten daher die Werte der beiden $F_1$- und von je 4 $F_2R$-Zuchten zusammengefaßt werden. Der gesamte Vergiftungsverlauf dieser Gruppen während der 9stündigen Gifteinwirkung ist in der Abb. 8 für 19—25 Std, in der Abb. 9 für 1—19 Std alte Fliegen dargestellt. Daraus ist ersichtlich, daß die Werte der $F_1$ in der Mitte zwischen den beiden Elternwerten (S I und K) liegen und daß die Überlebensquoten der

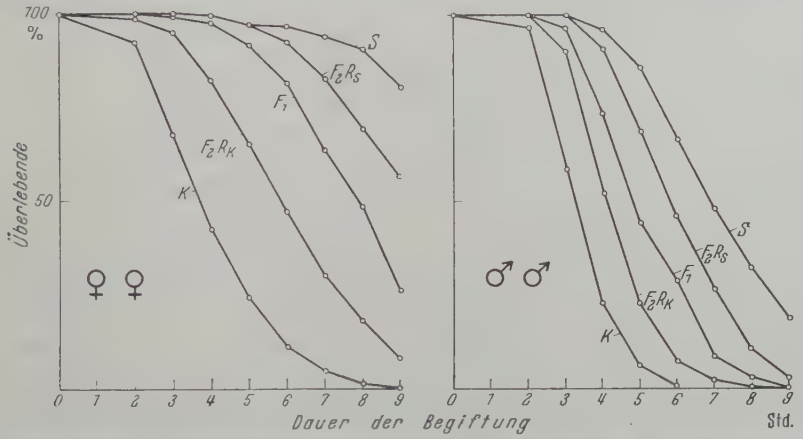



Abb. 8. Gegenüberstellung der Überlebensraten 19—25 Std alter Fliegen des I. Selektionsstammes (S), des Kontrollstammes (K), der $F_1$ aus den Kreuzungen S × K und K × S ($F_1$) und der Rückkreuzungen der $F_1$-Gruppen mit beiden Eltern ($F_2R_S$ und $F_2R_K$) während der 9stündigen Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale. Die Geschlechter sind getrennt dargestellt.

Tabelle 9. *Vergleich der nach 4- und 7stündiger Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale ermittelten Überlebensraten 1—19 Std alter Fliegen der I. Selektionsreihe (S I), des Kontrollstammes (K), der reziproken $F_1$-Kreuzungen und der 8 $F_2R$-Kreuzungen.*

| Stamm bzw. Kreuzung | Getestete Fliegen | | Überlebende in % nach 4 Std | | Überlebende in % nach 7 Std | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀ | ♂♂ |
| S I | 677 | 660 | 96,3 | 93,4 | 75,0 | 37,8 |
| K | 419 | 426 | 17,4 | 21,1 | 1,0 | 0,5 |
| (S I×K) $F_1$ | 364 | 358 | 85,5 | 76,0 | 28,5 | 7,3 |
| (K × S I) $F_1$ | 313 | 327 | 89,1 | 74,6 | 25,3 | 3,1 |
| $\Sigma$ $F_1$ | 677 | 685 | 87,2 | 75,3 | 27,1 | 5,3 |
| (S I× K)♀× S I♂ | 87 | 106 | 100,0 | 94,3 | 62,1 | 31,1 |
| (S I× K)♂× S I♀ | 136 | 151 | 97,1 | 93,4 | 70,6 | 24,5 |
| (K × S I)♀× S I♂ | 121 | 116 | 94,2 | 89,7 | 57,0 | 25,9 |
| (K × S I)♂× S I♀ | 172 | 160 | 97,7 | 95,6 | 70,3 | 36,3 |
| $\Sigma$ $F_2R_S$ | 516 | 533 | 97,1 | 93,5 | 65,8 | 29,6 |
| (S I× K) ♀× K♂ | 150 | 172 | 64,0 | 53,5 | 12,0 | 1,7 |
| (S I× K) ♂× K♀ | 127 | 149 | 54,3 | 47,7 | 14,2 | 4,7 |
| (K × S I) ♀× K♂ | 161 | 176 | 62,1 | 54,5 | 16,8 | 6,8 |
| (K × S I) ♂× K♀ | 182 | 185 | 54,9 | 58,4 | 9,9 | 2,2 |
| $\Sigma$ $F_2R_K$ | 620 | 682 | 58,8 | 53,8 | 13,1 | 3,8 |

$F_2R$-Zuchten mittlere Werte zwischen denen der $F_1$ und den jeweils zur Rückkreuzung benutzten Eltern ergeben.

Zusätzlich wurden sodann zwischen der selektionierten „Park"-Rasse (Generationen 33—38) und dem Kontrollstamm reziproke Kreuzungen durchgeführt und die erhaltenen $F_1$-Generationen auf ihren Empfindlichkeitsgrad getestet. In der Tabelle 10 sind die Ergebnisse nach 4- bzw. 7stündiger Gifteinwirkung enthalten. Wie in den vorher beschriebenen Kreuzungen halten sich die Überlebensraten der $F_1$ unabhängig von der Kreuzungsrichtung in der Mitte zwischen denen der beiden Ausgangsrassen.

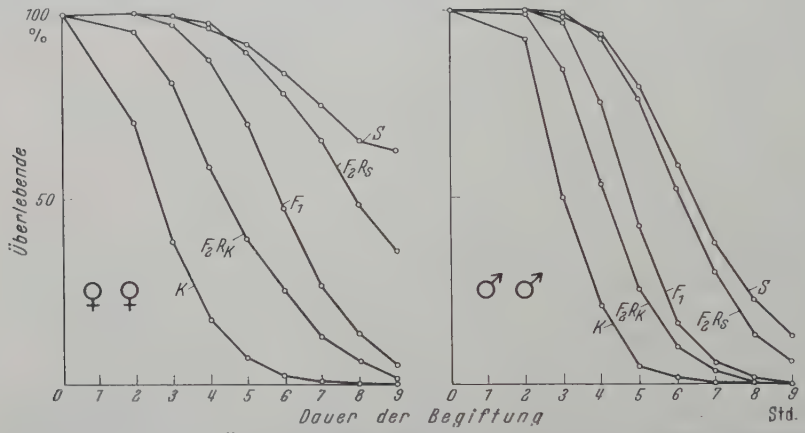



Abb. 9. Gegenüberstellung der Überlebensraten 1—19 Std alter Fliegen des I. Selektionsstammes (S), des Kontrollstammes (K), der $F_1$ aus den Kreuzungen S × K und K × S ($F_1$) und der Rückkreuzungen der $F_1$-Gruppen mit beiden Eltern ($F_2RS$ und $F_2R_K$) während der 9stündigen Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale. Die Geschlechter sind getrennt dargestellt.

Tabelle 10. *Vergleich der nach 4- und 7stündiger Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale ermittelten Überlebensraten 19—25 Std alter Fliegen des „Park"-Stammes (SP), des Kontrollstammes (K) und der reziproken $F_1$-Kreuzungen.*

| Stamm bzw. Kreuzung | Getestete Fliegen | | Überlebende in % nach 4 Std | | Überlebende in % nach 7 Std | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 19—25 Std alt | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀ | ♂♂ |
| SP | 722 | 816 | 99,8 | 98,5 | 95,3 | 72,0 |
| K | 316 | 340 | 42,4 | 22,9 | 5,1 | 0,0 |
| (SP× K) $F_1$ | 367 | 355 | 95,7 | 83,3 | 70,7 | 13,0 |
| (K ×SP) $F_1$ | 271 | 236 | 97,0 | 88,6 | 67,2 | 19,4 |
| $\Sigma$ $F_1$ | 638 | 591 | 96,2 | 85,4 | 69,2 | 15,5 |
| 1—19 Std alt | | | | | | |
| SP | 847 | 831 | 97,6 | 96,5 | 86,2 | 69,0 |
| K | 419 | 426 | 17,4 | 21,1 | 1,0 | 0,5 |
| (SP× K) $F_1$ | 406 | 430 | 89,2 | 80,0 | 36,8 | 9,3 |
| (K ×SP) $F_1$ | 272 | 294 | 92,6 | 90,8 | 36,5 | 11,2 |
| $\Sigma$ $F_1$ | 678 | 724 | 90,6 | 84,4 | 36,7 | 10,1 |

## D. Diskussion.

Die zum Teil über 80 Generationen lang fortgesetzten Selektionsversuche mit DDT an Imagines von *Drosophila melanogaster* führten in drei getrennten Ver-

suchsreihen zur Gewinnung von hochgradig DDT-unempfindlichen Stämmen. Als sensible Ausgangsstämme dienten für zwei Selektionsreihen (S I und S II) der Laboratoriumsstamm „Berlin wild", für eine weitere (S P) ein aus einem Parkgelände bei Berlin kurz vor Beginn der Selektionsversuche eingefangener Wildstamm.

Der Verlauf des Resistenzanstiegs in den Generationsfolgen zeigt in allen Versuchsreihen die für Selektionsprozesse typischen S-förmigen Kurven, wie Abb. 2 für S I erkennen läßt. Dort sind die Generationswerte für 3, 4 und 7 Std Begiftungsdauer eingetragen, die sämtlich S-Form haben. (Die 4- und 7-Std-Werte können nach null extrapoliert werden, da in den ersten Selektionsgenerationen keine Differenzen zwischen dem Selektions- und Kontrollstamm vorhanden waren; sie ergeben dann ebenfalls einen S-förmigen Verlauf.) Die Kurve des Resistenzanstiegs für die Testung nach 3 Std hat einen flachen Verlauf; nach jeder weiteren Teststunde nehmen die Differenzen zwischen Selektions- und Kontrollstamm jedoch zu und damit auch die Steilheit der Kurven.

Die schließlich erreichte Resistenz der Selektionsstämme in den geprüften Altersgruppen übertrifft bei weitem die DDT-Widerstandsfähigkeit der langlebigsten Tiere der Ausgangsstämme. So befand sich unter 8615 getesteten Kontrollfliegen nicht eine, die eine 10stündige Gifteinwirkung überlebte, während in den resistenten Selektionsstämmen ein hoher Prozentsatz noch nach dieser Zeit am Leben war. Wenn man annimmt, daß die phänotypisch widerstandsfähigsten Individuen des sensiblen Ausgangsstammes sich in bezug auf die Widerstandsfähigkeit zugleich genetisch von ihren sensiblen Schwestertieren unterschieden, so ist eine derart beträchtliche Steigerung der Resistenz nach ihrer fortgesetzten Selektion jedoch nicht erklärbar durch eine monofaktorielle Bedingtheit dieser Eigenschaft. Selbst wenn man die widerstandsfähigsten Ausgangstiere nur als Heterozygote anspräche, so lassen auch die Kreuzungsergebnisse für die $F_1$ aus den Kreuzungen resistent $\times$ sensibel diese Annahme als unwahrscheinlich erscheinen. Mehr spricht dafür, daß durch die Selektionsprozesse eine größere Anzahl verschiedener resistenzbedingender Allele aus dem Ausgangsstamm herausgezogen wurden, die sich im Verlaufe der Generationen summieren und kombinieren konnten. Wir müssen also bei unseren Stämmen mit einer polyfaktoriellen Bedingtheit der Resistenz rechnen und können die Resistenzfaktoren als polymere Faktoren ansprechen. Wahrscheinlich befinden sich in jeder Population mehr oder weniger große Zahlen von Individuen, die einzelne, aber jeweils verschiedene Resistenzgene besitzen. Alle diese Individuen haben bei einer Konfrontierung mit dem Gift einen geringen Vorteil und durch ihre bevorzugte Paarung kommt schließlich als Kombinationswirkung die starke Resistenzsteigerung zustande.

Es besteht die Möglichkeit, daß darüber hinaus in den Experimenten im Laufe der Generationen neue Mutationen mit sensibilitätsschwächender Wirkung spontan aufgetreten sein könnten. Unter natürlichen Bedingungen, wie sie z. B. bei Bekämpfungsaktionen großer Gebiete mit hohen Individuenzahlen vorliegen, besteht dafür eine gewisse Wahrscheinlichkeit. Rechnet man bei *Drosophila* mit $10^4$ Genen und einer durchschnittlichen Mutationsrate von $10^{-6}$, so findet sich im Mittel in 1 % der Keimzellen irgendein neues Allel. Aber nur ein Bruchteil davon wird sich auf die Reaktion der Fliegen gegen DDT auswirken, so daß

angenommen werden muß, daß die für die Resistenz verantwortlichen Faktoren in unseren Fliegenstämmen mit den im Verhältnis außerordentlich geringen Individuenzahlen schon vor Beginn der Versuche enthalten waren. Daß etwa der Wirkstoff DDT verantwortlich ist für das Auftreten von Resistenzmutationen, konnte von LÜERS (1953) durch den Nachweis ausgeschlossen werden, daß DDT in der hier applizierten Form nicht mutagen ist.

Zeitlich war jedoch der Verlauf der Resistenzsteigerung in allen Serien verschieden. In der I. Selektionsreihe zeigte sich im Vergleich zu dem behandelten Kontrollstamm von der 11. Generation an eine statistisch gesicherte Differenz zwischen den Überlebensraten, während in der II. Selektionsreihe schon in der $F_5$ gesichert höhere Überlebensraten gefunden wurden. Dagegen zeigte der „Park"-Stamm bereits in der 2.—3. Generation einen erhöhten Resistenzgrad wenigstens bei den Weibchen. Auch der Zeitpunkt der Beendigung des Resistenzanstiegs war bei allen Versuchsserien verschieden.

Die schnelle Resistenzentwicklung der Gruppe a aus der II. Selektionsreihe ist wahrscheinlich auf eine zufällige Auslese besonders giftfester Individuen zurückzuführen. Bei dem verhältnismäßig kleinen Material, wie es in unseren Versuchsreihen im Vergleich zu Freilandpopulationen im allgemeinen vorliegt, kann der Zufall das Evolutionsgeschehen stark beschleunigen und so unwahrscheinliche Evolutionsergebnisse erklärlich machen (LUDWIG 1940). Mit diesem Sewall Wright-Effekt ist um so stärker zu rechnen, je kleiner die Population ist.

Der Unterschied in der Giftanfälligkeit der ersten Generationen des „Park"-Stammes und der I. Selektionsreihe kann darauf beruhen, daß die bis zu Beginn der Versuche im Freien lebenden Fliegen bereits früher mit DDT in Berührung gekommen waren und sich schon im ersten Selektionsstadium befanden, während die Laboratoriumsrasse bis zum Versuchsbeginn nie mit DDT oder anderen Insektiziden behandelt worden war. Es kann aber auch damit gerechnet werden, daß die höhere Allgemeinvitalität, die der Freilandstamm zweifellos besitzt, einen Einfluß auf die Giftreaktion hatte. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß die „Park"-Population im Freien den verschiedensten Umwelteinwirkungen ausgesetzt war und dadurch einer laufenden Selektion unterworfen wurde. In diesem Falle bestünde eine Beziehung zwischen der DDT-Resistenz und anderen morphologischen oder physiologischen Eigenschaften.

Für die Höhe des Resistenzgrades der drei Selektionsstämme können auf Grund unserer Ergebnisse zwei Faktoren verantwortlich gemacht werden. Erstens ist sie vom gesamten Genotyp der Population abhängig. Das ergibt sich aus den unterschiedlichen Resistenzgraden, die nach Beendigung des Resistenzanstiegs bei übereinstimmender Giftapplikation erzielt wurden und aus der bereits erwähnten Tatsache, daß verschiedene Laboratoriumsrassen schon vor Beginn der Selektion eine unterschiedliche Giftempfindlichkeit aufweisen. Zweitens ist es von Bedeutung, welche Giftkonzentration auf die Fliegen einwirkt. Je größer die Giftmenge ist, d. h. je gründlicher Selektion betrieben werden kann, um so stärker kann die Sensibilität der Fliegenpopulationen herabgemindert werden. Die Anzahl der dem Gift ausgesetzten Generationen spielt dabei eine geringere Rolle. Die Tabelle 11 macht das deutlich. Sie enthält zusammenfassend die Selektionsvorteile $\delta$ und die Verhältnisse der Vernichtungswahrscheinlichkeiten zwischen dem Kontrollstamm und den Selektionsstämmen S I, S IIa, S IIc und

S P, die nach Selektion bei einer Gifteinwirkung von 200 $\gamma$ DDT je Petrischale gewonnen wurden. Die Zahlen für den Stamm S IIb beziehen sich auf die Selektion bei einer Gifteinwirkung von 100 $\gamma$ DDT je Petrischale. Es ist anzunehmen, daß nach einer Verdoppelung der Giftmenge auf 200 $\gamma$ DDT je Petrischale wie in den vorher beschriebenen Gruppen ebenfalls noch eine geringe Resistenzsteigerung zu erzielen wäre und die Gruppe b eventuell denselben Resistenzgrad wie die Gruppe c erreichen würde, da diese erst relativ spät (nach 24 Generationen) aus der Gruppe b herauselektioniert werden konnte. Die Anzahl der selektionierten Generationen bis zur Beendigung des Resistenzanstiegs ist für den Stamm S IIa um ein Vielfaches niedriger als für die anderen Selektionsstämme.

Tabelle 11. *Die Selektionsvorteile δ und die Vernichtungswahrscheinlichkeiten (VW) der Selektionsstämme S I, S IIa, S IIc, S P und S II b gegenüber dem Kontrollstamm.*

| Stamm | Generation | δ | | VW | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀ | ♂♂ |
| S I | 71—80 | 0,909 | 0,719 | 1000: 91 | 1000: 281 |
| S IIa | 22—26 | 0,947 | 0,908 | 1000: 53 | 1000: 92 |
| S IIc | 55—59 | 0,885 | 0,750 | 1000:115 | 1000:250 |
| S P | 56—60 | 0,961 | 0,958 | 1000: 39 | 1000: 42 |
| S IIb | 47—50 | 0,821 | 0,626 | 1000:179 | 1000:374 |

In der Praxis liegen ähnliche Befunde vor. In den Ländern, in denen DDT zuerst die sorgfältigste und ausgedehnteste Anwendung fand, in Schweden und Dänemark, traten auch die ersten Mißerfolge in der Fliegenbekämpfung auf. Die Versuche ergaben, daß Fliegen nach einer Steigerung der Giftkonzentration in allen Fällen mit einem Resistenzanstieg reagierten. Daraus leitet sich für die Schädlingsbekämpfung die kaum je erfüllbare Forderung nach einer 100%igen Abtötung der Insekten ab.

In allen Versuchen wurden die beiden Geschlechter stets getrennt protokolliert, so daß wir für die verschiedenen Stämme die Reaktion der Geschlechter auf die Gifteinwirkung angeben können. Wilson und Gahan (1948), Bruce (1950) und Mosebach (1951) haben auf Unterschiede in der DDT-Empfindlichkeit zwischen Weibchen und Männchen der Stubenfliege hingewiesen. Die Abb. 3—6, 8 und 9 unserer Versuche zeigen eine große statistisch gesicherte Überlegenheit der Weibchen. Das gilt für resistente und sensible Stämme und für die aus den Kreuzungen hervorgegangenen Tiere, und zwar sowohl für Fliegen im Alter von 19—25 Std wie auch von 1—19 Std. Bei den letzteren machen die Kontrolltiere insofern eine Ausnahme, als die jungen Männchen in den ersten 4 Std der Gifteinwirkung höhere Überlebensquoten aufweisen als die gleich alten Weibchen. Der absolute wie auch relative Resistenzgrad der Weibchen aus den Selektionsstämmen erreicht aber gegenüber den Kontrollen einen bedeutend höheren Wert als der Resistenzgrad der Männchen. Die stärkere Resistenzausprägung bei den Weibchen hängt wahrscheinlich mit physiologischen Eigenarten der Geschlechter zusammen. Zu einem Teil könnte die geringere Sensibilität der Weibchen damit erklärt werden, daß diese einen höheren Fettgehalt aufweisen als die Männchen. Berim und Edel'man (1950) zeigten, daß DDT im Fettkörper von Käfern gespeichert und zum Teil abgebaut werden kann. Einer Mitteilung von Babers

und PRATT (1950) ist zu entnehmen, daß die Cholinesterase-Aktivität in den Köpfen DDT-resistenter Stubenfliegen geringer ist als bei sensiblen und bei Weibchen geringer als bei Männchen. Einen sehr interessanten Befund, der unserem unterschiedlichen Resistenzverhalten der Geschlechter parallel läuft, vermittelt uns SACKTOR (1951). Danach ist der Aktivitätsgrad der Cytochromoxydase bei normalen Weibchen und Männchen der Stubenfliege annähernd gleich (entsprechend nur geringen Empfindlichkeitsunterschieden bei den Geschlechtern unserer Kontrollfliegen), während er bei resistenten Tieren erhöht ist, und zwar bei Weibchen stärker als bei Männchen.

In weiteren Versuchen wurde geprüft, ob der einmal vorhandene Resistenzgrad einer Population nach dem Aufhören der DDT-Einwirkung erhalten bleibt. Wir haben diese Untersuchungen mit dem S I-Stamm (ab $F_{51}$) und dem S P-Stamm (ab $F_{31}$) durchgeführt und erhielten in den ersten 15 Generationen gleichbleibende Überlebensraten. In den nächsten 5 Generationen setzte bei beiden Gruppen ein sehr langsames Absinken der Werte ein, dem in weiteren Generationen (bis $F_{25}$) ein rascher Abfall und (bis $F_{30}$) wieder ein allmähliches Absinken folgte. In den nächsten 25 Generationen folgte die Überlebenskurve einem horizontalen Verlauf (s. Abb. 6). Die Resistenzverminderung kann darauf beruhen, daß es sich bei den resistenten Individuen der Generationen 51 (S I) und 31 (S P) noch nicht um reine Resistenzstämme gehandelt hat und daß die widerstandsfähigen Fliegen nicht unbedingt diejenigen sind, welche in DDT-freiem Milieu die günstigsten Eigenschaften zum Überleben besitzen. Ein solcher Stamm wird nach dem Fortfall der Insektizidwirkung die Tendenz zeigen, zu seinem früheren Zustand zurückzukehren. Da unsere Selektionsversuche gezeigt haben, daß nach der 51. Generation des S I-Stammes und der 31. Generation des S P-Stammes noch ein weiterer Resistenzanstieg erzielt werden konnte, lagen also bei Absetzen der Selektion noch keine reinen Resistenzstämme vor.

Die Versuche haben ergeben, daß die Überlebenswerte der von weiterer Selektion ausgeschlossenen Fliegenstämme nicht auf die Werte der Kontrolltiere absinken, sondern schließlich einem horizontalen Verlauf folgen, bevor die Kontrollwerte erreicht werden. Das kann darauf beruhen, daß die Stämme zu dem Zeitpunkt des Ausbleibens weiterer Selektion in einigen Allelen, die an der Resistenzausbildung beteiligt sind, bereits homozygot waren, in anderen aber noch nicht. Für die Annahme, daß in DDT-freiem Milieu auf Grund noch nicht übersehbarer Bedingungen eine Gegenselektion einsetzt, spricht eine Beobachtung von PIMENTEL, DEWEY und SCHWARDT (1951). Die Autoren haben eine Beziehung zwischen der Länge der Larvenperiode und dem Resistenzgrad gegenüber DDT bei Stubenfliegen ermittelt. DDT-resistente Fliegen aus Larven, welche sich während der ersten 48 Stunden verpuppten, waren weniger resistent als solche, die sich nach 48 Std verpuppten. Wir haben bei unseren *Drosophila*-Stämmen ein ganz ähnliches Ergebnis erhalten. Unsere besonders resistenten „Park"-Tiere und Fliegen der II. Selektionsreihe (Gruppe a) zeichnen sich durch eine gegenüber den sensiblen Kontrollfliegen verlängerte Entwicklungszeit aus.

In den Versuchen zur Analyse des Vererbungsmodus der DDT-Resistenz zeigten die reziprok durchgeführten Kreuzungen zwischen den resistenten S I- und S P-Stämmen einerseits und dem Kontrollstamm andererseits in jedem Fall einen semidominanten Erbgang. Unsere $F_1$-Fliegen nehmen in ihrem Resistenz-

grad eine Mittelstellung zwischen den Überlebensraten ihrer Eltern ein. Es erwies sich dabei als gleichgültig, ob die für die Resistenz verantwortlichen Erbträger von der Mutter oder vom Vater geliefert wurden. In beiden Fällen wurden gleiche Resultate erhalten. Das gilt auch für die $F_2R$-Kreuzungen. Die 4 verschiedenen $F_1$-Gruppen wurden 1. mit den resistenten Eltern rückgekreuzt und ergaben Nachkommen, deren Resistenzgrad zwischen dem der $F_1$ und dem der Rückkreuzungseltern liegt — wobei wiederum das Geschlecht keinen Einfluß auf die Ergebnisse hat —, 2. wurden die gleichen 4 $F_1$-Gruppen mit den sensiblen Eltern rückgekreuzt, und auch hier zeigt sich das gleiche Bild: unabhängig vom Geschlecht der Eltern intermediäre Werte der Überlebensraten bei der Nachkommenschaft. Diese Ergebnisse zeigen, daß das Merkmal „Resistenz gegenüber DDT" bei unseren *Drosophila*-Stämmen durch im Kern lokalisierte Gene vererbt wird. Dies scheint aber nicht bei allen Insekten der Fall zu sein. Einer Untersuchung von Cochran, Grayson und Levitan (1952) ist zu entnehmen, daß reziproke Kreuzungen zwischen DDT-resistenten und nichtresistenten Küchenschaben *(Blatella germanica)* unterschiedliche Ergebnisse zeitigten. Die Resistenz in der Nachkommenschaft war stärker ausgeprägt nach Kreuzung resistenter Weibchen mit empfindlichen Männchen. Die Autoren schließen daraus auf eine Beteiligung plasmatischer Faktoren. Aber auch die Kreuzung nichtresistenter Weibchen mit resistenten Männchen liefert männliche Bastarde mit stärkerer Resistenz als sie die nichtresistenten Männchen besitzen. Dies Ergebnis wird damit erklärt, daß auch chromosomale Faktoren an der Resistenzausbildung beteiligt sind, und zwar autosomale Gene, da die $F_1$-Männchen ihr X-Chromosom von der Mutter erhalten. Die Übertragung plasmatischer Partikel durch das Sperma wird für unwahrscheinlich gehalten. Für Empfindlichkeit gegenüber anderen Giften ließ sich auch bei *Drosophila melanogaster* plasmatische Vererbung nachweisen. So stellte L'Héritier (1948) sehr eingehende Untersuchungen über die Vererbung der $CO_2$-Empfindlichkeit an. Er konnte plasmatische Partikel für die Übertragung dieser Eigenschaft nachweisen. Rasmuson (1951) fand einen mütterlichen Effekt bei reziproken Kreuzungen zwischen normalen und ätherempfindlichen Taufliegen.

Die Ergebnisse unserer Kreuzungsexperimente lassen vermuten, daß die Resistenzgene der Selektionsstämme über das gesamte Genom verteilt sind und daß dem X-Chromosom keine besondere Bedeutung zukommt. Von besonderem Interesse wäre noch die Frage, ob es sich bei den Resistenzfaktoren der verschiedenen toleranten Stämme von *Drosophila* um die gleichen Allele handelt. Die Ergebnisse mehrerer Autoren (Dresden und Oppenoorth 1953, Tsukamoto und Ogaki 1953, Ogaki und Tsukamoto 1953) sprechen mit großer Wahrscheinlichkeit dafür. Tsukamoto und Ogaki (1954) konnten darüber hinaus für die DDT- und BHC-Resistenz des Hikone-R-Stammes von *D. melanogaster* das gleiche Gen oder ein Pseudoallel verantwortlich machen und schließen daraus, ungeachtet der Verschiedenheit in der chemischen Struktur dieser Gifte, auf einen gleichen oder ähnlichen Mechanismus in der Wirkung beider Insektizide.

## Zusammenfassung.

1. Durch Selektion von Imagines auf DDT-behandelten Petrischalen wurden drei DDT-resistente Stämme von *Drosophila melanogaster* gewonnen. Zwei

Stämme leiten sich von dem Laboratoriumsstamm „Berlin wild" ab, der dritte von einem kurz vor Versuchsbeginn eingefangenen Freilandstamm.

2. In den drei Selektionsstämmen ergaben sich Unterschiede in der Geschwindigkeit der Resistenzentwicklung und in der Höhe des erreichten Resistenzgrades. Weibchen weisen stets höhere Überlebensraten auf als Männchen.

3. Nach Unterbrechung der Selektion sinken die Toleranzwerte der resistenten Stämme ab, die Empfindlichkeitsstufe der Kontrollen wurde jedoch in den bisherigen Generationszahlen nicht erreicht.

4. Zwischen resistenten und sensiblen Fliegen wurden reziproke Kreuzungen durchgeführt. Die Eigenschaft „DDT-Resistenz" folgt einem semidominanten Erbgang. Beide Kreuzungsrichtungen ergeben gleiche Resultate in den $F_1$-Generationen. Die 8 verschiedenen $F_2R$-Kreuzungen ergeben unabhängig von dem Geschlecht der Eltern und Großeltern intermediäre Werte zwischen der $F_1$ und dem zur Rückkreuzung verwendeten P-Stamm. Es wird daraus auf eine karyotisch bedingte Übertragung der Resistenzfaktoren geschlossen.

5. Die Ausbildung der Resistenz scheint durch polymere Faktoren bedingt zu sein, die über das gesamte Genom verteilt sind.

Herrn Prof. Dr. H. LÜERS danke ich für die Überlassung des Themas und Förderung dieser Arbeit herzlich.

## Literatur.

BABERS, F. H.: Development of insect resistance to insecticides. USDA E-**776**, 1 (1949). — BABERS, F. H., and J. J. PRATT jr.: Studies on the resistance of insects to insecticides. I. Cholinesterase in houseflies (*Musca domestica* L.) resistant to DDT. Physiologic. Zool. **23**, 58 (1950). — BERIM, N. G., i N. M. EDEL'MAN: Wege zur Überwindung der physiologischen Festigkeit von Insekten gegenüber Dichlordiphenyltrichloräthan (DDT) und Hexachlorcyclohexan (HCCH). Dokl. Akad. Nauk SSSR. **73**, 425 (1950). — BOCHNIG, V.: Untersuchungen zur Frage der Resistenz gegenüber DDT an verschiedenen Stämmen von *Drosophila melanogaster*. Diplomarbeit, Humboldt-Univ. Berlin 1951. — The mode of inheritance of DDT resistance in *Drosophila*. Dros. Inf. Serv. **26**, 91 (1952). — BRUCE, W. N.: Current report on house-fly resistance to insecticides. Pest Control **1950**. — BRUCE, W. N., and G. C. DECKER: House-fly tolerance for insecticides. Soap a. Sanitary Chemicals **1950**. — COCHRAN, D. G., J. M. GRAYSON, and M. LEVITAN: Chromosomal and cytoplasmic factors in transmission of DDT resistance in the German cockroach. J. Econ. Entomol. **45**, 997 (1952). — CROW, J., and D. SMITH: DDT resistance. Dros. Inf. Serv. **26**, 97 (1952). — DICKSON, R. C.: Inheritance of resistance to hydrocyanic acid fumigation in the California red scale. Hilgardia **13**, 515 (1941). — DRESDEN, D., and F. J. OPPENOORTH: Some properties of a gamma HCCH-resistant strain. Dros. Inf. Serv. **27**, 87 (1953). — HARRISON, C. M.: DDT-resistant house-flies. Ann. Appl. Biol. **37**, 2 (1950). — HOUGH, W. S.: Colorado and Virginia strains of codling moth in relation to their ability to enter sprayed and unsprayed apples. J. Agric. Res. **48**, 533 (1934). — KEIDING, J., and H. VAN DEURS: D.D.T.-resistance in house-flies in Denmark. Nature (Lond.) **163**, 964 (1949). — KIKKAWA, H., M. OGAKI, and M. TSUKAMOTO: Resistance to insecticides in *Drosophila melanogaster*. Dros. Inf. Serv. **27**, 96 (1953). — KING, J. C.: Development of resistance to DDT in *Drosophila melanogaster*. Dros. Inf. Serv. **27**, 96 (1953). — L'HERITIER, PH.: Sensitivity to $CO_2$ in *Drosophila* — a review. Heredity (Lond.) **2**, 325 (1948). — LUDWIG, W.: Selektion und Stammesentwicklung. Naturwiss. **28**, 689 (1940). — LÜERS, H.: Über genetische Versuche mit Kontaktinsektiziden an *Drosophila*. Moderne Biologie, Festschr. für H. NACHTSHEIM, S. 198. Berlin: Peters-Verlag 1950. — Raising *Drosophila* on a medium containing DDT. Dros. Inf. Serv. **24**, 86 (1950). — Zum Problem der Resistenz gegenüber Kontaktinsektiziden. Wissenschaftl. Annalen **1**, 461 (1952). — Untersuchung zur Frage der Mutagenität des Kontaktinsektizids DDT an *Drosophila melanogaster*. Naturwiss. **40**, 293 (1953). — MONRO, H. A. U.: Die Resistenz von Insekten gegen Insektizide. Anz. Schädlingskde **24**, 130 (1951). — MOSEBACH, E.: Unterschiedliche Empfindlichkeit von Männchen und

Weibchen der Stubenfliege. Z. hyg. Zool. **39**, 139 (1951). — Ogaki, M., and M. Tsukamoto: Genetical analysis of DDT-resistance in some Japanese strains of *Drosophila melanogaster*. Botyu-Kagaku **18**, 100 (1953). — Oppenoorth, F. J., and D. Dresden: Selection of a BHC-resistant strain of *Drosophila melanogaster* Mg. Bull. Entomol. Res. **44**, 395 (1953). — Oshima, C.: Genetic studies on DDT resistance in wild and mutant strains of *Drosophila virilis*. Dros. Inf. Serv. **27**, 109 (1953). — Pimentel, D., J. E. Dewey, and H. H. Schwardt: An increase in the duration of the life cycle of DDT-resistant strains of the housefly. J. Econ. Entomol. **44**, 477 (1951). — Quayle, H. J.: The increase in resistance in insects to insecticides. J. Econ. Entomol. **36**, 4 (1943). — Rasmuson, B.: Ether susceptibility of two stocks of *Drosophila melanogaster*. Hereditas (Lund) **37**, 560 (1951). — Sacktor, B.: A comparison of the cytochrome oxidase activity of two strains of houseflies. J. Econ. Entomol. **43**, 832 (1951). — Smith, H. S.: Racial segregation in insect populations and its significance in applied entomology. J. Econ. Entomol. **34**, 1 (1941). — Tsukamoto, M., and M. Ogaki: Inheritance of resistance to DDT in *Drosophila melanogaster*. Botyu-Kagaku **18**, 39 (1953). — Gene analysis of resistance to DDT and BHC in *Drosophila melanogaster*. Botyu-Kagaku **19**, 25 (1954). — Wilson, H. G., and J. B. Gahan: Susceptibility of DDT-resistant house-flies to other insecticidal sprays. Science (Lancaster, Pa.) **107** (1948).

Dr. Veronika Bochnig, Berlin-Dahlem, Ehrenbergstr. 26—28,
Max-Planck-Institut für vergl. Erbbiologie und Erbpathologie.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 86, S. 210—223 (1954).

Institute of Animal Genetics, Edinburgh, Scotland.

# A SEARCH FOR CHROMATID INTERFERENCE IN THE MALE HOUSE MOUSE.

By

T. C. Carter*.

With 6 figures in the text.

*(Eingegangen am 31. Mai 1954.)*

## Introduction.

When three linked genes $A$, $B$ and $C$ segregate together, the frequency of recombination between $B$ and $C$ is usually reduced among individuals in which $B$ has recombined also with $A$ (Sturtevant 1913); this phenomen was investigated by Muller (1916), who named it *cross-over interference*.

It was supposed that cross-over interference is due to a tendency for chiasma formation to be suppressed in the neighbourhood of an existing chiasma. Evidence from cytological data of the existence of this phenomenon, *chiasma interference*, was found by Haldane (1931).

A possible alternative mechanism for cross-over interference was pointed out by Sansome (1933). Chiasma formation involves two strands of a four-strand bivalent (Janssens 1909, Anderson 1925) and cross-over interference would result if there were a tendency for one chiasma to involve strands other than those involved in an adjacent chiasma. Cytological confirmation of the occurrence of this phenomenon, *chromatid interference*, was obtained by Hearne and Huskins (1935).

Cross-over interference is thus the result of two quite distinct cytological phenomena affecting, respectively, the position and the strand-configuration of a new chiasma relative to an adjacent chiasma. There is no *a priori* reason for supposing that they operate with the same strength, or even the same relative strength, in all biological material; and therefore it is necessary to introduce them explicitly into any mathematical model used to investigate their genetical consequences. The genetical implications of chiasma interference were investigated by Haldane (1919, 1931) and those of chromatid interference by Weinstein (1928, 1936). The general equation relating recombination frequency to chiasma frequency and chromatid interference strength was given by Carter and Robertson (1952); but attempts to particularise require justification in the form of chiasma frequency and chromatid configuration observations of the species in question; and for most biological material chromatid configurations, at least, are at present technically difficult or impossible to observe.

However, with a species which is genetically well mapped, and for which chiasma counts have been made, it should be possible to reverse the argument and infer the strength of chromatid interference from genetical crossing-over and chiasma

* Member of the Medical Research Council's scientific staff.

frequency data. In this paper data from *Mus musculus* males are analysed with this object; they lead to the conclusion that there is little or no evidence of chromatid interference in the male mouse.

## The chromosomes of the mouse.

The haploid number in *Mus musculus* is 20. The meiotic chromosomes of the male differ in size, the longest being about twice as long as the shortest (Crew and Koller 1932, Makino 1941, Slizynski 1949). The sex chromosomes form one of the largest bivalents. Among the autosomes three size groups can be distinguished, consisting of four long, six medium and nine short autosomes (Slizynski 1954). The autosomal centromeres appear to be subterminal when seen at mitosis in gonial cells (Makino 1941), embryonic somatic tissues (Beatty and Fischberg 1951) and ascites tumours (Levan and Hauschka 1953). However, at meiosis some of them appear to have a short as well as a long arm (Koller 1944, Slizynski 1949).

Spermatocyte diplotene chiasma counts have been made by Crew and Koller (1932) and by Slizynski (1954). Crew and Koller analysed only one complete nucleus and a number of bivalents selected at random; for this reason it is difficult to estimate the chiasma interference in their data, and they will be disregarded here. Slizynski analysed fifty complete nuclei; but the sex chromosomes are in advance of the autosomes during meiotic prophase, and there is chiasma terminalisation, so a chiasma count of the sex bivalent is not comparable with counts of the autosomes of the same nucleus. For this reason, and also because of uncertainty about the position of the centromere in the sex chromosomes, only the autosomal chiasma frequencies are considered in this paper.

Slizynski's (1954) observations were made on two groups of mice; one consisted of males from the *CBA* inbred strain and the other was genetically heterogeneous. The *CBA* group shewed higher diplotene chiasma frequencies. As a high diakinesis chiasma frequency is characteristic of this strain (Huskins and Hearne 1936), it is probable that a high diplotene frequency is also a strain characteristic. It was therefore assumed that the genetically heterogeneous group is better representative of mice generally, and the data from this group only are used in the analysis of chiasma interference. They are reproduced in table 1.

Table 1. Slizynski's *(1954) diplotene chiasma frequency data for genetically heterogeneous male mice.*

| Chromosomes | Bivalents with chiasmata | | | | | | | Total bivalents | Chiasmata per bivalent | Mean spermatogonial length ($\mu$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Total | | | |
| Short (9) . | 0 | 207 | 154 | 8 | 0 | 0 | 539 | 369 | 1·461 | 4·0 |
| Medium (6) | 0 | 25 | 174 | 46 | 1 | 0 | 515 | 246 | 2·093 | 5·2 |
| Long (4) . . | 0 | 4 | 79 | 70 | 10 | 1 | 417 | 164 | 2·543 | 6·6 |

## Chiasma interference.

In the absence of chiasma interference, a bivalent of mean chiasma frequency $m$ is expected to have 0, 1, 2 . . . chiasmata with frequencies given by the Poisson terms $e^{-m}$, $me^{-m}$, $m^2e^{-m}/2!$ . . .; the variance of the number of chiasmata should

then be equal to its mean (Haldane 1919, 1931). Table 2 shews the means and variances of the numbers of chiasmata in Slizynski's three groups of autosomes. In each group the variance is considerably smaller than the mean; some degree of chiasma interference is clearly present.

How can it be measured? Mather (1936, 1937) suggested that chiasma formation is a sequential process, starting near the centromere and proceeding distally. The centromere was thought to have interference properties such that the proximal chiasma is distributed round some mean point at a 'differential distance' $d$ from it. A second chiasma is then formed distal to the first, the distance between them being distributed round some mean value $i$ ('interference distance'). A third chiasma then forms at a mean distance $i$ distal to the second, and so on. The position of each new chiasma is related only to the position of the last chiasma formed before it.

Table 2. *Means and variances of the numbers of chiasmata in* Slizynski's *(1954) three groups of mouse autosomes.*

| Chromosome group | Number of chiasmata | |
|---|---|---|
| | Mean | Variance |
| Short . . | 1·461 | 0·292 |
| Medium . | 2·093 | 0·296 |
| Long . . . | 2·543 | 0·455 |

Three simplifying assumptions will be incorporated in this model before testing it with Slizynski's (1954) data. They are:

(a) The centromere is effectively terminal in all mouse autosomes.

(b) The differential distance is equal to the interference distance.

(c) The distances between the centromere and the first chiasma, and between adjacent chiasmata, are distributed normally with standard deviation $s$.

Distances from the centromere will be measured in terms of some scale such that chiasma interference properties are uniform along it; they will therefore be

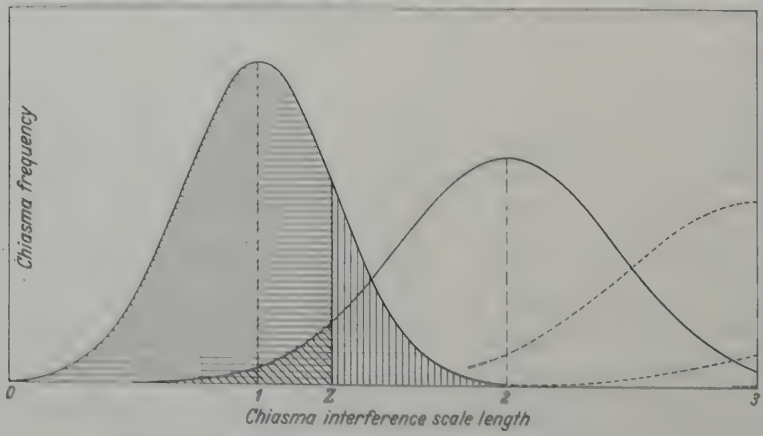



Fig. 1. For explanation see text.

proportional to cytological distances if the bivalent is uniform in its chiasma interference properties. The scale unit will arbitarily be chosen to be equal to the interference distance. The assumption that the first chiasma is distributed normally implies that it will sometimes be beyond the centromere, and therefore right outside the chromosome. However, these occasions will be very rare so long as $d$ is greater than, say, $3s$; they must be regarded as representing failure to

Table 3. *Chiasmata expected in male mouse autosomes using* MATHER's *chiasma interference model with* $s = 0{\cdot}3095$.

| Chromosomes | Bivalents with chiasmata | | | | | | $z$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 or more | |
| *Short* | | | | | | | |
| Expected . . . | 0·707 | 206·326 | 153·390 | 8·424 | 0·155 | 0·000 | 1·933 |
| Observed . . . | 0 | 207 | 154 | 8 | 0 | 0 | |
| *Medium* | | | | | | | |
| Expected . . . | 0·153 | 26·792 | 171·243 | 45·576 | 2·189 | 0·037 | 2·538 |
| Observed . . . | 0 | 25 | 174 | 46 | 1 | 0 | |
| *Long* | | | | | | | |
| Expected . . . | 0·102 | 1·737 | 80·235 | 73·234 | 8·377 | 0·315 | 2·999 |
| Observed . . . | 0 | 4 | 79 | 70 | 10 | 1 | |

form a bivalent. (One such event was, in fact, observed by SLIZYNSKI among the *CBA* mouse spermatocytes.)

As it is assumed that there is no correlation between the length of one interchiasma and the next, the variance of their sum is equal to the sum of their variances. The position of the $n$th chiasma is therefore distributed with standard deviation $s\sqrt{n}$ round a point at a distance $n$ units from the centromere. In text-fig. 1 the centromere is at 0 and successive chiasmata are distributed round the points 1, 2, 3 . . . Consider the point Z at a scale distance $z$ from the centromere. The frequency $P_0$ with which there will be no chiasma between 0 and Z is equal to the frequency with which the first chiasma lies distal to Z; it is therefore given by the vertically hatched area ${}^1R_z$ to the right of Z, so that

$$P_0 = {}^1R_z. \tag{1a}$$

Conversely the frequency with which there will be at least one chiasma between 0 and Z is given by the horizontal hatched area ${}^1L_z$ to the left of Z. Similarly the frequency with which there will be at least two chiasmata between 0 and Z is given by the diagonally hatched area ${}^2L_z$ to the left of Z. Therefore, by subtraction, the frequency with which there will be exactly one chiasma between 0 and Z is

$$P_1 = {}^1L_z - {}^2L_z. \tag{1b}$$

Similarly

$$P_2 = {}^2L_z - {}^3L_z \tag{1c}$$

and so on. If now the point Z marks the distal end of the bivalent, equations (1) give the frequencies with which it is expected to have 0, 1, 2 . . . chiasmata; and its mean chiasma frequency is

$$m = 2x = \sum_{n=0}^{\infty} n P_n \tag{2}$$

where $x$ is the genetical map length of the bivalent.

$P$ is a function only of the probability integrals $L$ and $R$; these are functions of the scale length $z$ and the standard deviations $s$, and their values can be obtained from tables of the normal probability integral, e.g. those of LOWAN (1942). The values of $z$ and $s$ giving the best fit with the observational data can then be found by trial and successive approximation. Table 3 gives the expectations obtained by simultaneous fitting of the chiasma counts of all three groups of autosomes in

SLIZYNSKI's (1954) data. The best fit is given by $s = 0{\cdot}3095$. In computing these expectations account was taken of the fact that bivalent formation will fail when the expected position of the first chiasma lies beyond either end of the chromosome; equation (1a) was therefore replaced by

$$P_0 = {}^1R_z + {}^1L_0.$$

This slight correction affected only the fourth significant figure. There is very good agreement between the expected and observed numbers of chiasmata, which encourages one to believe that this model fairly closely depicts the mechanism of chiasma interference in mouse spermatocytes. Justification of the assumption that the differential and interference distances are equal is found in text-fig. 2, where the computed mean scale length of each group of autosomes, $z$, is plotted against the observed mean spermatogonial length (SLIZYNSKI 1954). The points fall close to a straight line through the origin. This would be expected if $d$ and $i$ are equal and the chromosomes are homogeneous in their interference properties.

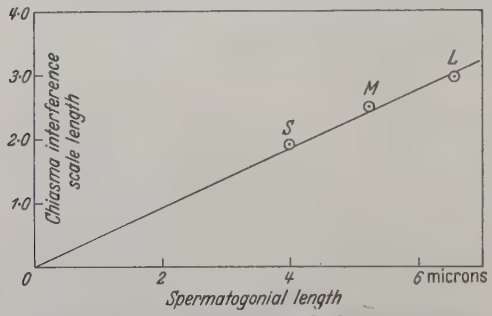



Fig. 2. Chiasma interference scale lengths of three groups of mouse autosomes plotted against their mean cytological lengths in spermatogonia. Data of SLIZYNSKI (1954).

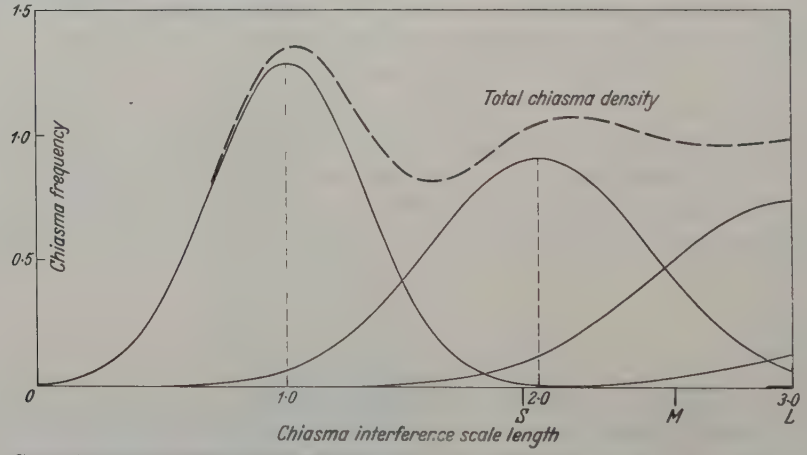



Fig. 3. Computed distributions of successive chiasmata and of total chiasma density along the chiasma interference scale. $L$, $M$, $S$, computed scale lengths of long, medium and short groups of chromosomes

Text-fig. 3 shews the computed chiasma distributions and total chiasma density along the chromosomes. Near the centromere the chiasma density is very variable, but elsewhere it settles down to unity. In regions remote from the centromere, therefore, one interference scale unit corresponds with 50 centimorgans of map length; but this relationship does not hold good in regions near the centromere.

Equations (1) give the frequencies with which 0, 1, 2 . . . chiasmata are expected in a chromosome segment adjacent to the centromere. The corresponding frequencies for any other segment $XY$ can be found in a similar way from the

distributions of the first and successive chiasmata distal to $X$; these distributions must be found by mechanical integration on the basis of the known total chiasma density in the region proximal to $X$. Text-fig. 4 shews the distributions of the chiasmata distal to a point sufficiently remote from the centromere for the total chiasma density in its neighbourhood to be unity.

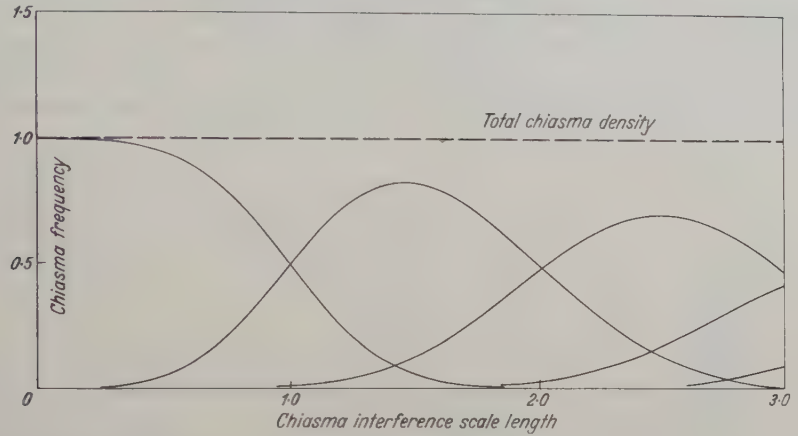



Fig. 4. Computed distributions of successive chiasmata and total chiasma density distal to a point remote from the centromere.

## Chromatid interference.

### *1. Evidence from long linkage groups.*

The recombination frequency, $p$, of any two chromosome markers $A$ and $B$ depends on (a) the frequencies $P_0, P_1, P_2 \ldots$ with which 0, 1, 2 ... chiasmata are formed in the segment $AB$, and (b) the chromatid interference strength $(\alpha - \gamma)$, where $\alpha$ and $\gamma$ are the probabilities of adjacent chiasmata having two- and four-strand configurations respectively. The fundamental equation is

$$p = \tfrac{1}{2}(1 - P_0) - \tfrac{1}{2}\sum_{n=1}^{\infty} P_{2n} \prod_{j=1}^{n} (\alpha_{2j} - \gamma_{2j}) \qquad (3a)$$

where $(\alpha_{2j} - \gamma_{2j})$ is the value of $(\alpha - \gamma)$ appropriate to the formation of the $2j$th chiasma (Carter and Robertson 1952). In what follows it will be assumed that $(\alpha - \gamma)$ is constant within each bivalent, so that equation (3a) reduces to

$$p = \tfrac{1}{2}(1 - P_0) - \tfrac{1}{2} P_2 (\alpha - \gamma) - \tfrac{1}{2} P_4 (\alpha - \gamma)^2 - \tfrac{1}{2} P_6 (\alpha - \gamma)^3 - \ldots \qquad (3b)$$

For the special cases of complete negative, zero, or positive chromatid interference (i.e. $\alpha - \gamma = +1, 0, -1$), equation (3a) reduced further to

$$p = \tfrac{1}{2}(1 - P_0) - \tfrac{1}{2} P_2 - \tfrac{1}{2} P_4 - \tfrac{1}{2} P_6 - \ldots \qquad (3c)$$

$$p = \tfrac{1}{2}(1 - P_0). \qquad (3d)$$

$$p = \tfrac{1}{2}(1 - P_0) + \tfrac{1}{2} P_2 - \tfrac{1}{2} P_4 + \tfrac{1}{2} P_6 - \ldots \qquad (3e)$$

The relationship between the chiasma frequencies $P$ and map distance $x$ have already been given in equation (2). Text-fig. 5 shews $p$ plotted against $x$ for segments adjacent to the centromere and remote from it, and for these three limiting values of chromatid interference strength. It is apparent that the effect of proximity to the centromere is of minor importance compared with that of

chromatid interference. It is also apparent that chromatid interference has little effect on recombination across segments shorter than about 35 centimorgans, but for segments longer than 45 centimorgans its effect is important. With complete negative chromatid interference recombination never exceeds 42%; with complete positive chromatid interference it exceeds 50% for map distances between 50 and 150 centimorgans, reaching a maximum of 82% or more for segments of 100 centimorgans. The recombination observed across a long segment of known map length therefore provides a test for the presence of chromatid interference. The most sensitive test would be provided by recombination data

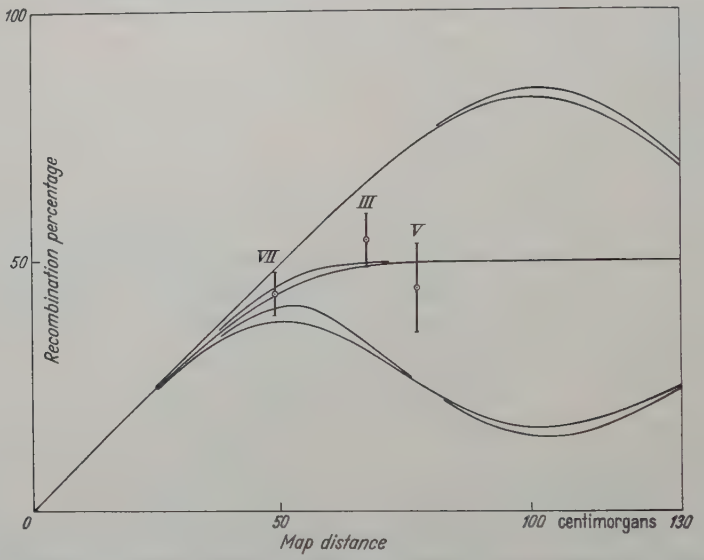



Fig. 5. Recombination percentage plotted against map distance, for the strength of chiasma interference ound in Slizynski's data. The three sets of curves are based on the assumption of (upper set) complete positive, (middle) zero, and (lower) complete negative chromatid interference. The upper of the two curves in each set refers to segments adjacent to the centromere, the lower curve to segments remote from it. III, V, VII, observed recombination between the end markers of three linkage groups; the vertical bar indicates deviations of twice the standard error.

from linkage groups about 100 centimorgans long; but no group of this length is yet known in the mouse though Slizynski's (1954) chiasma frequency data for long autosomes imply that such groups exist.

There are three known linkage groups which exceed 45 centimorgans in the male mouse, and for which a lower limit can be set to the total map length by summing the frequencies of recombination across included subsegments; they are groups III, V and VII. Table 4 summarises the relevant recombinations. Only data referring to male gametogenesis should be used, but for the *pa-fi* subsegment in group V it was found necessary to use intercross data (Carter 1951a) and for the *fi-Sd* subsegment the sex of the segregating parent was not stated (Wallace 1950). The observed recombination between the extreme markers is plotted in text-fig. 5 against the minimum map length thus found. All three observations agree with expectation on the assumption that there is no chromatid interference and significantly disagree with complete positive chromatid interference; for the two longer groups observation disagrees also with complete negative

Table 4. *Male recombination in long linkage groups in the mouse.*

| Author and date | Markers | Recombination |
|---|---|---|
| *Linkage group III.* | | |
| Carter (1951b) | *s*, $W^v$ | 0·484 |
| Carter (1951b) | $W^v$, *lx* | 0·189 |
| | *Sum:* | 0·673 |
| Carter (1951b) | *s*, *lx* | 0·543±0·027 |
| *Linkage group V.* | | |
| Carter and Phillips (1954) | *Ra*, *a* | 0·220 |
| Carter (1947) | | |
| Fisher (1949) | *a*, *un* | 0·047 |
| Owen (1953) | | |
| Owen (1953) | *un*, *we* | 0·045 |
| Owen (1953) | *we*, *pa* | 0·023 |
| Carter (1951a) | *pa*, *fi* | 0·189[1] |
| Wallace (1950) | *fi*, *Sd* | 0·250[2] |
| | *Sum:* | 0·774 |
| Carter and Phillips (1954) | *Ra*, *Sd* | 0·447±0·045 |
| *Linkage group VII.* | | |
| Snell and Law (1939) | | |
| Wright (1947) | | |
| Snell (quoted by Fisher, Lyon and Owen, 1947) | *wa*-2, *sh*-2 | 0·295 |
| Carter and Phillips (1953) | | |
| Falconer (1947) | | |
| Carter and Phillips (1953) | *sh*-2, *Re* | 0·192 |
| | *Sum:* | 0·487 |
| Carter and Phillips (1953) | *wa*-2, *Re* | 0·436±0·025 |

[1] Intercross segregation.
[2] Sex of segregating parent not stated.

chromatid interference. The observations for groups III and V deviate in opposite directions from the curves for no chromatid interference, which evidently approximate closely to the best-fitting curve.

*2. Evidence from genetical coincidence.*

An alternative approach makes use of genetical coincidence data. When there are three linked markers, $A$, $B$ and $C$, and attention is confined to chromatids in which a cross-over has occurred in the segment $AB$, it should be possible to predict the distribution of chiasmata distal to $B$, and therefore the frequencies with which there will be 0, 1, 2 . . . chiasmata in $BC$. Once these are known, the expected frequency of recombination across $BC$ can be calculated from equation (3). This can then be compared with the frequency actually observed.

Suppose $A$, $B$ and $C$ lie in a proximodistal sequence. Then the frequencies with which 0, 1, 2 . . . chiasmata are to be expected in $BC$ depend on the scale lengths of $AB$ and $BC$ and on the distribution of chiasmata in $BC$, subject to the proviso that only those chromatids shall be considered which cross over in at least one chiasma in $AB$. The scale lengths of $AB$ and $BC$ are, in general, unknown; in what follows it will be assumed that both segments are remote from the centromere, so that their scale lengths are equal to twice their map lengths. The analysis is therefore accurate only insofar as this assumption is valid.

Provided also that $AB$ is short, it may be assumed that the distribution of chiasmata in $AB$ is uniform. The distribution of chiasmata in $BC$, subject to the stated proviso, can then be found by mechanical integration; and from it, by equation (1), the frequencies with which 0, 1, 2 . . . chiasmata are expected in $BC$.

The expected frequency of recombination across $BC$ is, by definition

$$p_e = P_0 q_0 + P_1 q_1 + P_2 q_2 + \ldots \tag{4}$$

where $q_n$ is the proportion of recombinants among the chromatids derived from bivalents with $n$ chiasmata in $BC$. Values of $q$ can be derived from the equations given by WEINSTEIN (1948). Subject to the proviso that the chromatids under consideration must cross over in at least one chiasma in $AB$, they are

$$q_0 = 0 \tag{5a}$$

$$q_1 = \tfrac{1}{2} + \tfrac{1}{2}(\alpha - \gamma) \tag{5b}$$

$$q_2 = \tfrac{1}{2} - \tfrac{1}{2}(\alpha - \gamma) \tag{5c}$$

$$q_3 = \tfrac{1}{2} + \tfrac{1}{2}(\alpha - \gamma)^2 \tag{5d}$$

$$q_4 = \tfrac{1}{2} - \tfrac{1}{2}(\alpha - \gamma)^2 \tag{5e}$$

and so on. It follows that the expected frequency of crossing-over in $BC$, among chromatids which crossed over in $AB$, is

$$p_e = \tfrac{1}{2}(1 - P_0) + \tfrac{1}{2}(\alpha - \gamma)(P_1 - P_2) + \tfrac{1}{2}(\alpha - \gamma)^2 (P_3 - P_4) + \ldots \tag{6}$$

If $p_0$ be the observed frequency, equation (6) can be used for estimating $(\alpha - \gamma)$. If all $P$ higher than $P_4$ can be neglected,

$$(\alpha - \gamma) = \frac{-(P_1 - P_2) \pm \sqrt{(P_1 - P_2)^2 - 4(P_3 - P_4)(1 - P_0 - 2p_0)}}{2(P_3 - P_1)}. \tag{7a}$$

When $BC$ is short enough for all $P$ higher than $P_2$ to be neglected,

$$(\alpha - \gamma) = \frac{2p_0 - (1 - P_0)}{P_1 - P_2}. \tag{7b}$$

When $P_2$ is negligible, compared with $P_1$ and $P_0$,

$$(\alpha - \gamma) = \frac{2p_0 - P_1}{P_1}. \tag{7c}$$

Thus far it has been assumed that $A$, $B$ and $C$ lie in a proximodistal sequence. Considerations of symmetry shew that the order may be reversed without invalidating the argument, provided again that it does not refer to regions too close to the centromere.

Seven published bodies of multipoint backcross segregation data for the male mouse are summarised in table 5. Four of them refer to short $BC$ segments in which the expected chiasma frequencies are very low and little or no double crossing-over was actually observed. They therefore contain very little information about chromatid interference (table 6). The other three bodies of data refer to larger $BC$ segments in which double crossing-over was both expected and observed (table 7). Observation agrees well with expectation on the basis of no chromatid interference.

Table 5. *Multipoint backcross data for segregation in the male mouse.*

| Author and date | Markers | Cross over types of progeny | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | *AB* | *BC* | *AB* & *BC* | *CD* | *BC* & *CD* | *AB*, *BC* & *CD* |
| Grüneberg (1935, 1936) . . | *sh*-1, $c^e$, *p* | 805 | 29 | 112 | 0 | — | — | — |
| Borger (1950) . . . . . | *a*, *pa*, *Sd* | 135 | 30 | 96 | 16 | — | — | — |
| Carter (1951b) . . . . . | *lx*, $W^v$, *s* | 61 | 21 | 64 | 13 | — | — | — |
| Mallyon (1951) . . . . . | *bt*, *Ca*, *N* | 567 | 73 | 18 | 0 | — | — | — |
| Falconer and Snell (1952) | *fr*, *sh*-1, $c^{ch}$, *p* | 26 | 7 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Owen (1953) . . . . . | *a*, *un*, *we*, *pa* | 2215 | 115 | 111 | 1 | 56 | 1 | 0 |
| Carter and Phillips (1954) | *Ra*, *a*, *Sd* | 54 | 14 | 41 | 14 | — | — | — |

Table 6. *Observed crossing-over in a segment BC, among chromatids with a cross-over in an adjacent segment AB, and expected crossing-over on the supposition that there is no chromatid interference.*

| Author and date | Markers | Observed | | Expected | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | *AB* | *AB* & *BC* | *AB* | *AB* & *BC* |
| Grüneberg (1935, 1936) | *sh*-1, $c^e$, *p* | 29 | 0 | 28·870 | 0·130 |
| Mallyon (1951) . . . . | *bt*, *Ca*, *N* | 73 | 0 | 72·751 | 0·249 |
| Falconer and Snell (1952) | *fr*, *sh*-1, *p* | 7 | 0 | 6·934 | 0·066 |
| Owen (1953) . . . . . | *a*, *un*, *pa* | 115 | 1 | 115·821 | 0·179 |
| Owen (1953) . . . . . | *un*, *we*, *pa* | 111 | 1 | 111·964 | 0·036 |
| Total, all experiments. | | 335 | 2 | 336·340 | 0·660 |

Table 7. *Observed crossing-over in a segment BC, among chromatids with a cross-over in an adjacent segment AB, and expected crossing-over on the supposition that there is no chromatid interference.*

| Author and date | Markers | Observed | | Expected | | $\chi^2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *AB* | *AB* & *BC* | *AB* | *AB* & *BC* | |
| Borger (1950) . . . . . | *a*, *pa*, *Sd* | 30 | 16 | 33·373 | 12·627 | 1·242 |
| Carter (1951b) . . . . | *lx*, $W^v$, *s* | 21 | 13 | 18·795 | 15·205 | 0·578 |
| Carter and Phillips (1954) | *Ra*, *a*, *Sd* | 14 | 14 | 19·076 | 8·924 | 4·238 |
| Total, all experiments | | 65 | 43 | 71·244 | 36·756 | 1·608 |

Table 8. *Analysis of $\chi^2$ for data from table 7.*

| Item | $\chi^2$ | *DF* | *P* |
|---|---|---|---|
| Total . . . . . | 6·058 | 3 | 0·11 |
| Chromatid interference . . . . | 1·608 | 1 | 0·20 |
| Heterogeneity . . . . . | 4·450 | 2 | 0·11 |

## Discussion.

Chiasma interference is of common occurrence. Its effect is to decrease the variance of the number of chiasmata in a bivalent (Haldane 1931); and this implies, *inter alia*, a decrease in the frequency of chromosome pairs which have failed to form at least one chiasma. It thus increases the frequency of bivalent formation; and since this is a necessary step in the formation of euploid gametes, chiasma interference may have an adaptive value.

Chromatid interference, on the other hand, has been reported on only a few occasions. For technical reasons it cannot be detected cytologically except in very favourable material, where individual meiotic chromatids can be followed (Hearne and Huskins 1935, Huskins and Newcombe 1941); and even then it is not possible to distinguish between two- and four-strand chiasma pairs, but only to compare their total with the total number of three-strand configurations.

Detection of chromatid interference must therefore usually depend on genetic methods. With organisms in which complete tetrads can be analysed, this yields direct information about chromatid interference; it has thus been reported for various species of *Neurospora* (see Papazian 1952, for a review of the literature). In higher organisms, where it is not possible to analyse complete tetrads, it is sometimes possible to draw inferences about chromatid interference from genetical observations of homozygosis in the progeny of chromosomally abnormal individuals; thus no evidence of its occurrence was found in ring-*X* and attached-X stocks of *Drosophila melanogaster* (L. V. Morgan 1933, Beadle and Emerson 1935, Weinstein 1936). When these methods are not available it is necessary to search for recombination values shewing notable departures from 50%, either below it or above, for long map distances; or to combine chiasma frequency and genetical interference data, as in the present paper.

Recombination limited to 25% for long map distances, a consequence of complete negative chromatid interference, does not appear to have been reported. Recombination exceeding 50%, which requires either two-strand crossing-over or positive chromatid interference with four-strand crossing-over, was reported

Table 9. *Conversion tables for recombination (p) and map distances (m), for use with male mouse segregation data.*

| *p* to *m* | | | | *m* to *p* | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *p* | *m* | *p* | *m* | *m* | *p* | *m* | *p* | *m* | *p* |
| 1 | 1·0 | 26 | 26·5 | 1 | 1·0 | 26 | 25·5 | 51 | 45·2 |
| 2 | 2·0 | 27 | 27·6 | 2 | 2·0 | 27 | 26·5 | 52 | 45·6 |
| 3 | 3·0 | 28 | 28·6 | 3 | 3·0 | 28 | 27·4 | 53 | 46·1 |
| 4 | 4·0 | 29 | 29·7 | 4 | 4·0 | 29 | 28·3 | 54 | 46·5 |
| 5 | 5·0 | 30 | 30·8 | 5 | 5·0 | 30 | 29·2 | 55 | 46·9 |
| 6 | 6·0 | 31 | 31·9 | 6 | 6·0 | 31 | 30·2 | 56 | 47·2 |
| 7 | 7·0 | 32 | 32·9 | 7 | 7·0 | 32 | 31·1 | 57 | 47·5 |
| 8 | 8·0 | 33 | 34·0 | 8 | 8·0 | 33 | 32·1 | 58 | 47·8 |
| 9 | 9·0 | 34 | 35·2 | 9 | 9·0 | 34 | 33·0 | 59 | 48·1 |
| 10 | 10·1 | 35 | 36·4 | 10 | 9·9 | 35 | 33·8 | 60 | 48·3 |
| 11 | 11·1 | 36 | 37·6 | 11 | 10·9 | 36 | 34·6 | 61 | 48·5 |
| 12 | 12·1 | 37 | 38·9 | 12 | 11·9 | 37 | 35·5 | 62 | 48·7 |
| 13 | 13·1 | 38 | 40·2 | 13 | 12·9 | 38 | 36·3 | 63 | 48·9 |
| 14 | 14·1 | 39 | 41·5 | 14 | 13·9 | 39 | 37·1 | 64 | 49·0 |
| 15 | 15·1 | 40 | 42·9 | 15 | 14·9 | 40 | 37·8 | ∞ | 50·0 |
| 16 | 16·2 | 41 | 44·3 | 16 | 15·8 | 41 | 38·6 | | |
| 17 | 17·2 | 42 | 45·8 | 17 | 16·8 | 42 | 39·4 | | |
| 18 | 18·2 | 43 | 47·3 | 18 | 17·8 | 43 | 40·1 | | |
| 19 | 19·2 | 44 | 48·9 | 19 | 18·8 | 44 | 40·8 | | |
| 20 | 20·3 | 45 | 50·7 | 20 | 19·8 | 45 | 41·5 | | |
| 21 | 21·3 | 46 | 52·8 | 21 | 20·7 | 46 | 42·2 | | |
| 22 | 22·3 | 47 | 55·3 | 22 | 21·7 | 47 | 42·8 | | |
| 23 | 23·4 | 48 | 58·8 | 23 | 22·7 | 48 | 43·5 | | |
| 24 | 24·4 | 49 | 63·9 | 24 | 23·6 | 49 | 44·1 | | |
| 25 | 25·5 | 50 | ∞ | 25 | 24·6 | 50 | 44·6 | | |

by M. E. Wright (1947) as occurring in *Mus musculus*. Her data came from experiments in which disturbances due to differential viability were carefully guarded against; when considered alone, their statistical significance is beyond question. However, attempts to repeat Wright's experiment yielded no consistent departure from free segregation (Carter and Phillips 1953), so it cannot be regarded as a substantiated instance of recombination exceeding 50%. In view of this, and of the evidence adduced in the present paper, it seems unlikely that chromatid interference occurs to any marked extent in the male mouse.

If chromatid interference can be disregarded, it is legitimate to use recombination-frequency/map-distance curves based on chiasma interference data. The

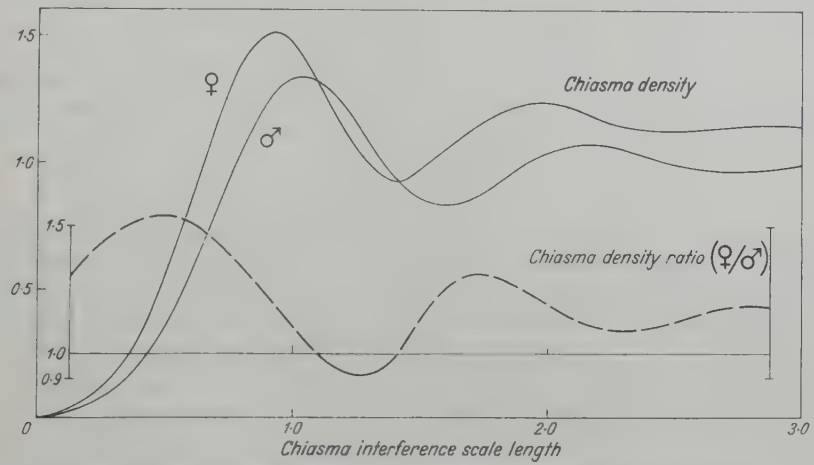



Fig. 6. Hypothetical chiasma density distributions for male and female mice, and the ratio of the densities. Though the mean chiasma frequency is higher in the female, the density is higher in the male between 1·1 and 1·4 interference scale units (30 and 50 centimorgans) from the centromere. Closer to the centromere it is very much higher in the female.

curves for segments adjacent to the centromere and remote from it are shewn in text-fig. 5; mean values, which should provide the best conversion for general use with male mouse data, are given in Table 9. A fairly close approximation is given by the fourth-power empirical curve used by Carter and Falconer (1951); the second-power empirical curve suggested by Kosambi (1944) deviates from them rather widely.

There are no chiasma frequency data for oogenesis in the mouse comparable with Slizynski's spermatogenesis data. From many observations of coincidence it is clear that cross-over interference in the female is much less strong than in the male, and oocyte chiasma counts (Crew and Koller 1932) suggest that this is due to a lower degree of chiasma interference. The higher mean chiasma frequency in the female reported by Crew and Koller is in agreement with the general rule that recombination frequencies are higher in the female. However, there are two notable exceptions to this rule, namely *Naked*, *Caracul* and *belted* in Linkage Group VI, *waved*-2 and *shaker*-2 in Group VII. These would be explained if, as a result of the higher mean chiasma frequency (and therefore shorter chiasma interference scale unit) in the female, the segments in question lay in this sex near a chiasma density minimum, though near a maximum in the male (see

text-fig. 6). This effect will be strongest near the centromere. It therefore suggests a possible means of finding the map position of the centromere, since the higher recombination in the male may be limited to a region between about 1·1 and 1·4 scale units (30 and 50 centimorgans) from the centromere. Its exact length will depend on the strength of chiasma interference in the female. Between this region and the centromere one would expect to find recombination very much higher in the female than the male, reaching a maximum at about 0·5 scale units (3 centimorgans) from the centromere. It is interesting to find that such a region appears to exist in Linkage Group VII, where the recombination between *vestigial* and *Rex* is much higher in females than males (Michie 1952). This suggests that the map-position of the centromere may be close to that of *Rex*.

*Acknowledgments.* I am indebted to Dr. B. M. Slizynski for permission to use his mouse spermatocyte diplotene chiasma frequency data prior to their publication; to Professor K. Mather, F.R.S., for helpful criticism; to Mr. E. D. Roberts, who drew the text-figures; and to Miss H. Forbes for help in preparing the manuscript.

## Summary.

Mouse spermatocyte chiasma frequency observations by Slizynski shew chiasma interference which can be adequately represented by a model due to Mather. Some genetical implications of this model are analysed, assuming various strengths of chromatid interference, and are compared with genetical observations. This indicates that there is little or no chromatid interference in the male mouse. A new map length and recombination frequency conversion table is given, based an the observed chiasma frequencies.

## Zusammenfassung.

Beobachtungen von Slizynski über Chiasma-Häufigkeit in Maus-Spermatocyten konnten befriedigend ausgedeutet werden auf Grund von Mathers Modell der Chiasma-Interferenz. Die genetischen Folgerungen aus diesem Modell wurden weiterhin untersucht unter Annahme verschiedener Grade von Chromatid-Interferenz. Ein Vergleich mit den genetischen Daten zeigt, daß Chromatid-Interferenz in der Maus gering oder abwesend ist. Unter Zugrundelegung der beobachteten Chiasma-Häufigkeiten wird eine neue Tabelle zur Umwandlung von Rekombinationsdaten in Abständen auf den Chromosomenkarten gegeben.

## References.

Anderson, E. G.: Crossing over in a case of attached X-chromosomes in *Drosophila melanogaster*. Genetics **10**, 403 (1925). — Beadle, G. W., and S. Emerson: Further studies of crossing-over in attached-X chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Genetics **20**, 192 (1935). — Beatty, R. A., and M. Fischberg: Heteroploidy in mammals. I. Spontaneous heteroploidy in pre-implantation mouse eggs. J. Genet. **50**, 345 (1951). — Borger, R.: Order of genes in the fifth linkage group of the house mouse. Nature (Lond.) **166**, 697 (1950). — Carter, T. C.: A new linkage in the house mouse: *undulated* and *agouti*. Heredity (Lond.) **1**, 367 (1947). — The position of *fidget* in linkage group V of the house mouse. J. Genet. **50**, 264 (1951a). — The genetics of *luxate* mice. II. Linkage and independence. J. Genet. **50**, 300 (1951b). — Carter, T. C., and D. S. Falconer: Stocks for detecting linkage in the mouse, and the theory of their design. J. Genet. **50**, 307 (1951). — Carter, T. C. and R. J. S. Phillips: The sex distribution of *waved*-2, *shaker*-2 and *Rex* in the house mouse. Z. Vererbungslehre **85**, 564 (1953). — *Ragged*, a semidominant coat texture mutant in the house mouse. J. Hered.

(in the press). — Carter, T. C., and A. Robertson: A mathematical treatment of genetical recombination, using a four-strand model. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **139**, 410 (1952). — Crew, F. A. E., and P. C. Koller: The sex incidence of chiasma frequency and genetical crossing-over in the mouse. J. Genet. **26**, 359 (1932). — Falconer, D. S.: Linkage of *Rex* with *shaker*-2 in the house mouse. Heredity (Lond.) **1**, 133 (1947). — Falconer, D. S., and G. D. Snell: Two new hair mutants, *rough* and *frizzy*, in the house mouse. J. Hered. **43**, 53 (1952). — Fisher, R. A.: A preliminary linkage test with *undulated* and *agouti* mice. Heredity (Lond.) **3**, 229 (1949). — Fisher, R. A., M. F. Lyon and A. R. G. Owen: The sex chromosome in the house mouse. Heredity (Lond. **1**, 355 (1947). — Grüneberg, H.: A three-factor linkage experiment in the mouse. J. Genet. **31**, 157 (1935). — Further linkage data on the *albino* chromosome of the house mouse. J. Genet. **33**, 255 (1936). — Haldane, J. B. S.: The combination of linkage values, and the calculation of distances between the loci of linked factors. J. Genet. **8**, 299 (1919). — The cytological basis of genetical interference. Cytologia **3**, 54 (1931). — Hearne, E. M., and L. C. Huskins: Chromosome pairing in *Melanoplus femur-rubrum*. Cytologia **6**, 123 (1935). — Huskins, L. C., and E. M. Hearne: Spermatocyte chiasma frequency in strains of mice differing in susceptibility or resistance to the spontaneous occurrence of malignant tumors. Canad. J. Res. D **14**, 39 (1936). — Huskins, L. C., and H. B. Newcombe: An analysis of chiasma pairs shewing chromatid interference in *Trillium erectum* L. Genetics **26**, 101 (1941). — Janssens, F. A.: La theorie de la chiasmatypie. Nouvelle interpretation des cineses de maturation. Cellule **25**, 387 (1909). — Koller, P. C.: Segmental interchange in mice. Genetics **29**, 247 (1944). — Kosambi, D. D.: The estimation of map distances from recombination values. Ann. of Eugen **12**, 172 (1944). — Levan, A., and T. S. Hauschka: Nuclear fragmentation, a normal feature of the mitotic cycle of lymphosarcoma cells. Hereditas (Lund.) **39**, 137 (1953). — Lowan, A. N.: Tables of probability functions. Federal Works Agency, Works Projects Administration. New York 1942. — Makino, S.: Studies on the murine chromosomes. I. Cytological investigations of mice included in the genus *Mus*. J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. VI (Zool.) **7**, 305 (1941). — Mallyon, S. A.: A pronounced sex difference in recombination values in the sixth chromosome of the house mouse. Nature (Lond.) **168**, 118 (1951). — Mather, K.: The determination of position in crossing over. I. *Drosophila melanogaster*. J. Genet. **33**, 207 (1936). — The determination of position in crossing over. II. The chromosome length-chiasma frequency relation. Cytologia, Fujii Jubilee Vol. **1937**, 514. — Michie, D.: A new linkage in the house mouse: *vestigial* and *Rex*. Nature (Lond.) **170**, 585 (1952). — Morgan, L. V.: A closed X chromosome in *Drosophila melanogaster*. Genetics **18**, 250 (1933). — Muller, H. J.: The mechanism of crossing-over. II. Amer. Naturalist **50**, 284 (1916). — Owen, A. R. G.: The analysis of multiple linkage data. Heredity (Lond.) **7**, 247 (1953). — Papazian, H. P.: The analysis of tetrad data. Genetics **37**, 175 (1952). — Sansome, F. W.: Chromatid segregation in *Solanum lycopersicum*. J. Genet. **27**, 103 (1933). — Slizynski, B. M.: A preliminary pachytene chromosome map of the house mouse. J. Genet. **49**, 242 (1949). — Cytological observations awaiting publication, communicated personally 1954. — Snell, G. D., and L. W. Law: A linkage between *shaker*-2 and *wavy*-2 in the house mouse. J. Hered. **30**, 447 (1939). — Sturtevant, A. H.: The linear arrangement of six sex-linked factors in *Drosophila*, as shewn by their mode of association. J. of Exper. Zool. **14**, 43 (1913). — Wallace, M. E.: Locus of the gene *fidget* in the house mouse. Nature (Lond.) **166**, 207 (1950). — Weinstein, A.: Four-strand crossing over. Anat. Rec. **41**, 109 (1928). — The theory of multiple-strand crossing-over. Genetics **21**, 155 (1936). — Recombination exceeding fifty per cent. Biometrics (Washington) **4**, 11 (1948). — Wright, M. E.: Two sex linkages in the house mouse with unusual recombination values. Heredity (Lond.) **1**, 349 (1947).

Dr. T. C. Carter, Institute of Animal Genetics, West Mains Road, Edinburgh 9, Scotland.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 86, S. 224—248 (1954).

Aus dem Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

# STUDIEN AN MUTABLEN GENEN.

## 1. *ANTIRRHINUM MAJUS* L. MUT. *GRAMINIFOLIA*.

Von

F. Mechelke und H. Stubbe.

Mit 15 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 30. Mai 1954.)*

## I. Einleitung.

Die Mutante *graminifolia* von *Antirrhinum majus* wurde erstmalig in Kulturen von E. Baur (1918) gefunden, und zwar in kurzem Zeitabstand voneinander 2mal. Beide Mutationen erfolgten innerhalb einer homozygoten Sippe, also in Pflanzen mit direkten gemeinsamen Vorfahren. Nach den seinerzeit von Baur veröffentlichten Stammbäumen kann kein Zweifel darüber bestehen, daß beide Mutationen unabhängig voneinander sind. Die Entdeckung von *graminifolia*-Pflanzen in zwei verschiedenen Generationen eines engeren Verwandtschaftskreises hat demnach nicht einen einzigen, sondern zwei Mutationsschritte zur Ursache.

Baur (1924) bezeichnete *graminifolia*-Pflanzen mit dem Symbol *nn*, Kuckuck und Schick (1930) entsprechend der modernen genetischen Nomenklatur mit dem Symbol *gram gram*. Die genannten Autoren geben für *graminifolia*-Pflanzen folgende Beschreibung:

*Graminifolia*-Pflanzen haben sehr schmale, grasartige Laubblätter. Auch alle anderen Blattorgane, wie Kelch- und Blumenblätter, sind stark verschmälert. Die beiden Blumenblätter der Oberlippe sind häufig nicht verwachsen. Auch der anatomische Bau des Laubblattes ist verändert. Während beim normalen Laubblatt von *Antirrhinum* die Palisadenschicht oberhalb des Hauptgefäßbündels durch isodiametrische Zellen ersetzt ist, wird bei den *gram gram*-Blättern die typische Palisadenschicht an dieser Stelle nicht unterbrochen. Die beim normalen Blatt hier deutlich erkennbare Einsenkung ist daher bei den *gram gram*-Blättern nicht vorhanden. *Gram* ist nicht völlig dominant über *gram*. Die Heterozygoten sind meist deutlich an der intermediären Breite ihrer Laubblätter erkennbar.

## II. Genetische Befunde[1].

In größeren experimentellen Mutationsversuchen mit *Antirrhinum majus*, die von einem von uns (Stubbe) in den Jahren 1927—1942 mit der Sippe 50 durchgeführt wurden, trat die Mutation *graminifolia* wiederholt nach Behandlung mit verschiedenen Agenzien auf. In der Regel waren die neuen *graminifolia*-Formen genotypisch und phänotypisch identisch mit den Baurschen Mutanten. In den Jahren 1936 und 1940 wurden jedoch *graminifolia*-Formen in der $F_2$-

[1] Fräulein Margarete und Ursula Fasshauer waren uns durch ihre große Zuverlässigkeit bei den genetischen Arbeiten eine wertvolle Hilfe. Für ihre unermüdliche Mitarbeit bei den cytologischen Arbeiten danken wir Frau Renate Mechelke.

Nachkommenschaft von mit UV bestrahltem Pollen (Linie a) und in der $F_2$-Nachkommenschaft von unter N-Mangel aufgezogenen Pflanzen, deren Pollen zusätzlich mit 3000 r Röntgenstrahlen bestrahlt wurde (Linie b), gefunden, die phänotypisch von den bisher bekannten Mutanten zwar nicht zu unterscheiden waren, die sich aber nach Selbstung als nicht konstant erwiesen. Sie spalteten neben *graminifolia* in einem relativ hohen Prozentsatz auch normale Pflanzen

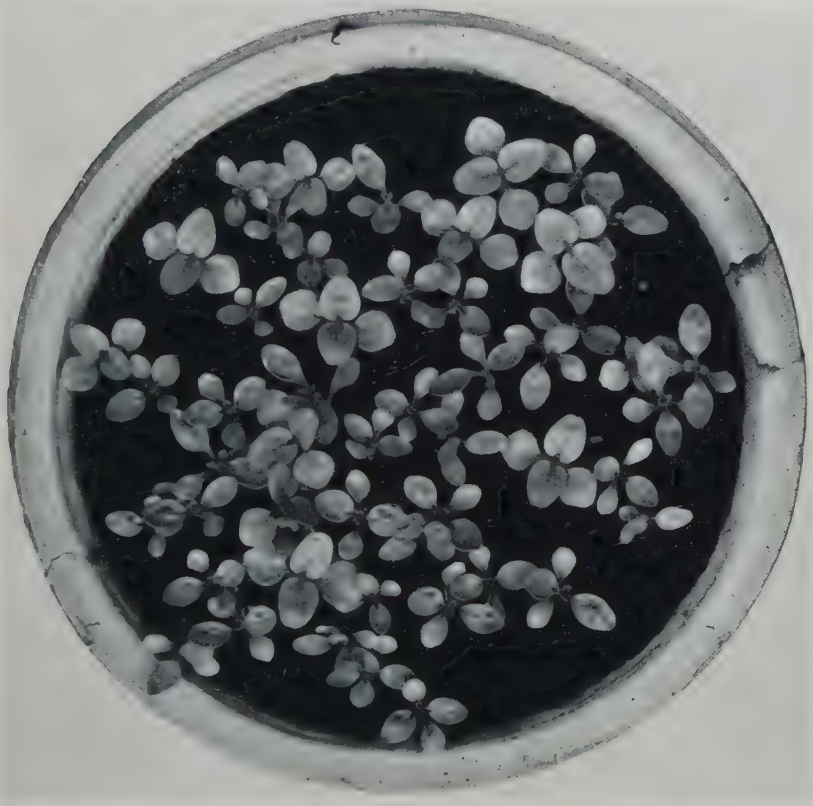


Abb. 1. Saatschale mit Aussaat einer $gram^{mut\text{-}b}$-Selbstung. $^3/_4$ der natürlichen Größe.

ab. Diese normalblättrigen Pflanzen waren größtenteils heterozygot, sie wurden als Rückmutationen im generativen Gewebe angesehen. Somatische Rückmutationen wurden niemals beobachtet (Abb. 1).

Wie aus den ersten Kreuzungsversuchen ersichtlich wurde, waren die mutablen Formen der konstanten allel. Die $F_1$ war keinesfalls normal, sondern wiederum *graminifolia* mit einem gewissen Anteil von phänotypisch normalen Rückmutanten. Wir haben also eine Serie multipler Allele vor uns mit den Gliedern *Gram*, $gram^{mut}$, $gram^{const}$.

Dieser Tatbestand eröffnet die Möglichkeit, die Bedingungen der Mutabilität genauer kennenzulernen und, wie Döring (1911) am gleichen Objekt mit ähnlicher Fragestellung gezeigt hat, die Dominanzverhältnisse zu untersuchen.

Die konstanten *graminifolia*-Mutanten erbrachten in mehrjährigen großen Nachkommenschaftsprüfungen ohne Ausnahme nach Selbstung der Eltern wieder

*graminifolia*-Pflanzen. Die Individuen der Kreuzungen *normal* × *graminifolia* und reziprok waren in der $F_1$ nicht völlig normal (*Gram* unvollkommen dominant über *gram*), sondern neigten zu einem mehr oder weniger intermediären Verhalten in der Laubblattbreite. In der $F_2$ erfolgte nach Selbstung der $F_1$ eine klare monohybride Spaltung im Verhältnis von 3 *normal*: 1 *graminifolia*. Auszählungen der Jahre 1946 und 1947 ergaben:

| | Gesamtzahl | *Gram* | *gram*$^{const}$ | Verhältnis |
|---|---|---|---|---|
| (*Gram* × *gram*$^{const}$) $F_1$ × s. . . . . | 7269 | 5418 | 1851 | 2,93:1,00 |
| (*gram*$^{const}$ × *Gram*) $F_1$ × s. . . . . | 8994 | 6726 | 2268 | 2,97:1,00 |

Rückkreuzungen des $F_1$-Bastardes mit dem rezessiven Elter spalteten in den Jahren 1946 und 1947 folgendermaßen:

| | Gesamtzahl | *Gram* | *gram*$^{const}$ | Verhältnis |
|---|---|---|---|---|
| *gram*$^{const}$ × (*Gram* × *gram*$^{const}$) . . . . . | 1253 | 562 | 691 | 0,81:1,00 |
| *gram*$^{const}$ × (*gram*$^{const}$ × *Gram*) . . . . . | 1519 | 730 | 789 | 0,92:1,00 |
| (*Gram* × *gram*$^{const}$) × *gram*$^{const}$ . . . . . | 5468 | 2668 | 2800 | 0,95:1,00 |
| (*gram*$^{const}$ × *Gram*) × *gram*$^{const}$ . . . . . | 6301 | 3136 | 3165 | 0,99:1,00 |
| Insgesamt | 14541 | 7096 | 7445 | 0,95:1,00 |

Selbstungen der $F_1$-Bastarde und Rückkreuzungen entsprechen bei den konstanten *graminifolia*-Mutanten also ziemlich gut den theoretischen Erwartungen.

Selbstungen von *graminifolia*-Pflanzen, die für das mutable Allel homozygot waren, ließen in den beiden neuen Linien a und b sehr bald starke Schwankungen im Prozentsatz der Rückmutationen in der Nachkommenschaft einzelner Pflanzen erkennen. Hiermit wird eine Erfahrung bestätigt, die auch Döring mit dem Gen *Unicolor* von *Antirrhinum majus* in verschiedenen Allelenverbindungen machte. Offensichtlich handelt es sich bei *Unicolor* wie *graminifolia* um Loci hoher Labilität, die ein häufiges Auftreten neuer Allele bedingt. Es ließen sich 2 Linien des mutablen Allels, eine mit niedriger, eine mit hoher Rückmutationsrate klar isolieren.

| | Gesamtzahl | *gram*$^{mut}$ | *Gram* | % |
|---|---|---|---|---|
| Linie a *gram*$^{mut}$ *gram*$^{mut}$ × s . . . . . | 4553 | 4376 | 177 | 3,88 |
| Linie b *gram*$^{mut}$ *gram*$^{mut}$ × s . . . . . | 2582 | 1945 | 637 | 24,67 |

Es wurde schon betont, daß somatische Rückmutationen in den mutablen Linien niemals beobachtet wurden, d.h. es wurden niemals normale Sektoren an *graminifolia*-Pflanzen gefunden. Die Rückmutationen sind auf ein bestimmtes Stadium der Ontogenese beschränkt. Sie erfolgen im generativen Gewebe, wobei zunächst offen bleiben muß, ob sie schon in den noch diploiden Gonenmutterzellen oder erst während oder nach der Reduktionsteilung in den haploiden

Gonen entstehen. Nehmen wir das letzte an, so sind nach den vorliegenden Auszählungen bei der schwach mutierenden Linie a von 9106 Gonen, aus denen die 4553 geprüften Pflanzen entstanden, wenigstens 177 von *gram* zu *Gram* mutiert, haben also zu phänotypisch normalen Pflanzen Anlaß gegeben, d. h. 1,94%. Bei der hoch mutablen Linie b sind dagegen von 5164 Gonen, die zur Entwicklung der 2582 geprüften Pflanzen Anlaß gaben, wenigstens 637 mutiert, d. h. 12,33%. In welcher Häufigkeit die rückmutierten, phänotypisch normalen Individuen durch die Vereinigung von 2 rückmutierten generativen Kernen bei der Befruchtung zu homozygot rückmutierten, also nicht mehr spaltenden Individuen geworden sind, wurde im einzelnen nicht nachgeprüft. In Selbstungsnachkommenschaften von Rückmutanten war folgende Verschiebung der Zahlenverhältnisse zugunsten der phänotypisch normalen Individuen festzustellen:

| | Gesamtzahl | *Gram* | *gram*$^{mut}$ | Verhältnis |
|---|---|---|---|---|
| Linie a *Gram gram*$^{mut}$ | 4019 | 3221 | 798 | 4,03:1 |
| Linie b *Gram gram*$^{mut}$ | 4601 | 3905 | 696 | 5,61:1 |

Auch wurde bei der Linie b geprüft, ob die Rückmutanten in Homozygoten gleichmäßig verteilt in den Samen einer Kapsel, die sich an einer zentralständigen Placenta entwickeln, vorkommen. Zu diesem Zweck wurden Selbstungskapseln der Linie b vorsichtig in der Mitte quer durchschnitten und der Inhalt der oberen und unteren Kapselhälften getrennt ausgesät.

Dabei ergab sich:

| | Gesamtzahl | *gram*$^{mut}$ | *Gram* | Rückmutanten % |
|---|---|---|---|---|
| Linie b, obere Kapselhälfte | 229 | 178 | 51 | 22,3 |
| Linie b, untere Kapselhälfte | 439 | 328 | 111 | 25,3 |

Gesicherte Unterschiede im Prozentsatz rückmutierter Pflanzen sind also in den beiden Kapselhälften nicht festzustellen.

Die Tatsache, daß es Serien multipler Allele gibt, bei denen die einzelnen Glieder der Serie phänotypisch gleich sind und sich nur durch ihre Konstanz voneinander unterscheiden, eröffnet die Möglichkeit, in reziproken Kreuzungen zwischen der konstanten und den mutablen Linien die Bedingungen der hohen Mutabilität in beiden Geschlechtern zu untersuchen. Die Ergebnisse sind folgende:

| | Gesamtzahl | *gram* | *Gram* | *Gram* % |
|---|---|---|---|---|
| Linie a *gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$ | 1480 | 1457 | 23 | 1,55 |
| Linie a *gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$ | 583 | 557 | 26 | 4,46 |
| Linie b *gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$ | 1353 | 1183 | 170 | $12{,}56 \pm 0{,}90$ |
| Linie b *gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$ | 546 | 430 | 116 | $21{,}24 \pm 1{,}75$ |

Hieraus ergibt sich, daß in der hochmutablen Linie b die Anzahl der gefundenen Mutanten in beiden Geschlechtern nicht dieselbe ist, es wurden vielmehr in den

männlichen Gonen der Linie b mit einwandfreier statistischer Sicherung mehr Mutationen registriert als in den weiblichen Gonen[1]. Und zwar sind von 1353 ♀ Gonen der mutablen Linie b in der Kreuzung $gram^{mut} \times gram^{const}$ 170 Gonen = $12{,}56 \pm 0{,}90\%$ mutiert. In der reziproken Kreuzung sind von 546 ♂ Gonen der hoch mutablen Linie b 116 Gonen = $21{,}24 \pm 1{,}75\%$ von $gram^{mut}$ zu *Gram* mutiert.

Einige Jahre später (1950) wurde dieser Versuch in der Linie b mit individuenreziproken Kreuzungen wiederholt. Er hatte folgendes Gesamtergebnis:

| | Gesamtzahl | *gram* | *Gram* | *Gram* % |
|---|---|---|---|---|
| Linie b $gram^{mut} \times gram^{const}$ | 5389 | 5019 | 370 | 6,86 |
| Linie b $gram^{const} \times gram^{mut}$ | 5220 | 4646 | 574 | 10,99 |

Hier zeigt sich, daß wiederum in den Kreuzungen mit dem mutablen Vater die Rückmutationsrate statistisch[2] gesichert höher ist als in den reziproken Kreuzungen mit der mutablen Mutter. Aber gleichzeitig ergeben sich zwei bemerkenswerte Erscheinungen. Einmal ist die Höhe der Rückmutationsraten in beiden Geschlechtern absolut geringer als in obengenanntem Versuch, und zweitens zeigt sich, daß von den 13 homozygoten $gram^{mut}$-Pflanzen, die individuenreziprok mit der entsprechenden Anzahl homozygoter $gram^{const}$-Pflanzen gekreuzt wurden, 3 $gram^{mut}$-Pflanzen keine gesicherten reziproken Unterschiede der Geschlechter in der Höhe der Rückmutationsrate erkennen ließen. Es handelt sich um folgende Pflanzen:

| | Gesamtzahl | *gram* | *Gram* | *Gram* % |
|---|---|---|---|---|
| 391 K $gram^{mut} \times gram^{const}$ | 479 | 459 | 20 | 4,2 |
| $gram^{const} \times$ 391 K $gram^{mut}$ | 422 | 404 | 18 | 4,3 |
| 392 J $gram^{mut} \times gram^{const}$ | 654 | 579 | 75 | 11,5 |
| $gram^{const} \times$ 392 J $gram^{mut}$ | 452 | 405 | 47 | 10,4 |
| 393 AF $gram^{mut} \times gram^{const}$ | 168 | 148 | 20 | 11,9 |
| $gram^{const} \times$ 393 AF $gram^{mut}$ | 253 | 227 | 26 | 10,3 |

Wir können auf den Tatbestand der absolut niedrigeren Rückmutationsraten und auf das Vorhandensein einzelner Individuen, die keine reziproken Unterschiede in den Rückmutationsraten erkennen ließen, hier vorerst nur hinweisen, ohne dafür eine Erklärung geben zu können.

Bevor wir auf die Frage nach den Ursachen der Unterschiede in der Rückmutabilität beider Geschlechter eingehen, seien noch einige andere Versuchsergebnisse mitgeteilt.

[1] Die Berechnung erfolgte nach Koller, S. 28—32, Tafel 5 und 6. Linie a beobachtete Differenz 2,9% (Grenzdifferenz 2,5), Linie b beobachtete Differenz 8,68% (Grenzdifferenz 5,8).

[2] Die Berechnung erfolgte nach Koller, S. 28, Tafel 5, „Vergleich der in 2 Reihen beobachteten Häufigkeiten bei gleichem Umfang der Reihen". Die beobachtete Differenz von 4% ist statistisch einwandfrei ($Pu = 1{,}59$, $Po = 1{,}85$).

Wurden $F_1$-Mutanten der Konstitution *gram*$^{mut}$ *gram*$^{const}$ aus reziproken Kreuzungen der mutablen Linie b mit der konstanten Linie geselbstet, so ergab sich folgendes:

| | Individuen-Gesamtzahl | Phänotypen | | *Gram* % |
|---|---|---|---|---|
| | | *gram* | *Gram* | |
| Linie b (*gram*$^{mut}$ *gram*$^{const}$) M×s . . . . . | 412 | 349 | 63 | 15,3 |
| Linie b (*gram*$^{const}$ *gram*$^{mut}$) M×s . . . . . | 686 | 567 | 119 | 17,3 |
| Insgesamt | 1098 | 916 | 182 | 16,49 |

Dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen, da von 2196 Gonen, die zur Entstehung von 1098 Pflanzen Anlaß gaben, nur 1098 mutabel waren, von denen wiederum 50% mit durchschnittlich 12,5% und 50% mit durchschnittlich 21,2% rückmutierten.

Rückkreuzungen von heterozygoten Mutanten (*gram*$^{const}$ *gram*$^{mut}$) mit *gram*$^{const}$ *gram*$^{const}$-Pflanzen erbrachten das nachstehende Ergebnis:

| | Individuen-Gesamtzahl | Phänotypen | | *Gram* % |
|---|---|---|---|---|
| | | *gram* | *Gram* | |
| Linie a (*gram*$^{mut}$ *gram*$^{const}$) M × *gram*$^{const}$ . . | 1058 | 1053 | 5 | 0,47 |
| Linie a *gram*$^{const}$ × (*gram*$^{mut}$ *gram*$^{const}$) M. . . | 759 | 738 | 21 | 2,76 |
| Linie b (*gram*$^{mut}$ *gram*$^{const}$) M × *grum*$^{const}$. . . | 1911 | 1819 | 92 | 4,81 |
| Linie b *gram*$^{const}$ × (*gram*$^{mut}$ *gram*$^{const}$) M. . . | 800 | 734 | 66 | 8,25 |

Diese Zahlen bestätigen die bisherigen Erfahrungen[1]. Die Unterschiede in den Rückmutationsraten differieren beträchtlich. Stets treten dort höhere Rückmutationsraten auf, wo das mutable Allel durch den Vater in die Kreuzung eingeführt wird.

In Rückmutanten aus den Kreuzungen mutabel×konstant und reziprok ist das mutable Allel *gram*$^{mut}$ zu *Gram* rückmutiert, alle Individuen demnach heterozygot für das konstante Allel *gram*$^{const}$. Es war zu prüfen, ob die Labilität des locus nur in Richtung *gram*$^{mut}$ → *Gram* verläuft, oder ob auch Hinmutationen in Richtung *Gram* → *gram*$^{mut}$ erfolgen. Eine Entscheidung hierüber kann durch die eventuell vorhandene Verschiebung der Spaltungsverhältnisse in Selbstungsnachkommenschaften und Rückkreuzungen der Rückmutanten der Konstitution *Gram gram*$^{const}$ mit *gram*$^{const}$ *gram*$^{const}$-Pflanzen erbracht werden. Die Ergebnisse solcher Selbstungen von Rückmutanten waren:

| | Individuenzahl | Phänotypen | | Verhältnis |
|---|---|---|---|---|
| | | *Gram* | *gram*$^{const}$ | |
| Linie a *Gram gram*$^{const}$ aus (*gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$) × s | 724 | 546 | 178 | 3,06:1 |
| Linie b *Gram gram*$^{const}$ aus (*gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$) × s | 2054 | 1561 | 493 | 3,20:1 |
| Linie a *gram*$^{const}$ *Gram* aus (*gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$) × s | 1797 | 1344 | 453 | 2,97:1 |
| Linie b *gram*$^{const}$ *Gram* aus (*gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$) × s | 1079 | 766 | 313 | 2,40:1 |
| Insgesamt | 5654 | 4217 | 1437 | 2,93:1 |

[1] Die statistische Berechnung erfolgte nach KOLLER, S. 28—32, Tafel 5 und 6. Linie a beobachtete Differenz 2,29% (Grenzdifferenz 1,93), Linie b beobachtete Differenz 3,44% (Grenzdifferenz 3,05).

Die Spaltungen entsprechen recht gut den Mendelschen Zahlenverhältnissen.

Rückkreuzungen der heterozygoten Rückmutanten *Gram gram*$^{const}$ mit dem rezessiven konstanten Elter *gram*$^{const}$ *gram*$^{const}$ ergaben:

| | Individuenzahl | Phänotypen | | Verhältnis |
|---|---|---|---|---|
| | | *Gram* | *gram* | |
| Linie a *Gram gram*$^{const}$ aus (*gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$) × *gram*$^{const}$ | 786 | 381 | 405 | 0,94:1 |
| Linie b *Gram gram*$^{const}$ aus (*gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$) × *gram*$^{const}$ | 1064 | 510 | 554 | 0,92:1 |
| Linie a *gram*$^{const}$ × *Gram gram*$^{const}$ aus (*gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$) | 166 | 79 | 87 | 0,91:1 |
| Linie b *gram*$^{const}$ × *Gram gram*$^{const}$ aus (*gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$) | 404 | 194 | 210 | 0,92:1 |
| Linie a *gram*$^{const}$ *Gram* aus (*gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$) × *gram*$^{const}$ | 1254 | 646 | 608 | 1,06:1 |
| Linie b *gram*$^{const}$ *Gram* aus (*gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$) × *gram*$^{const}$ | 283 | 142 | 141 | 1,00:1 |
| Linie a *gram*$^{const}$ × *gram*$^{const}$ *Gram* aus (*gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$) | 582 | 275 | 307 | 0,89:1 |
| Linie b *gram*$^{const}$ × *gram*$^{const}$ *Gram* aus (*gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$) | 236 | 119 | 117 | 1,01:1 |
| Insgesamt | 4775 | 2346 | 2429 | 0,96:1 |

Auch die Rückkreuzungen entsprechen recht gut dem theoretisch zu erwartenden Spaltungsverhältnis 1:1.

In den Rückmutanten aus der Kreuzung mutabel × konstant und reziprok ist also das mutable Allel *gram*$^{mut}$ zum dominanten konstanten Allel *Gram* rückmutiert. Hinmutationen von *Gram* → *gram*$^{mut}$ kommen anscheinend nicht vor; die Labilität des locus bewegt sich also ausschließlich in Richtung *gram*$^{mut}$ → *Gram*.

Bei der Entscheidung der Frage, auf welchen Ursachen die Unterschiede in der Mutabilität beider Geschlechter in *gram*$^{mut}$-Pflanzen beruhen, stehen 2 Deutungsmöglichkeiten im Vordergrund der Betrachtung:

1. Die hohe Mutabilität beruht nicht allein auf Strukturunterschieden im Gen selbst, sondern wird zusätzlich modifiziert durch bestimmte zellphysiologische Umweltbedingungen, die bei der Sporogenese im männlichen Geschlecht zu einer weiteren Steigerung der Mutabilität gegenüber der Mutabilität im weiblichen Geschlecht führen.

2. Die Unterschiede in der Mutantenzahl zwischen männlichem und weiblichem Geschlecht beruhen nicht auf einer durch zellphysiologische „Umwelt"-Verhältnisse bedingten Steigerung der Mutabilität im männlichen Geschlecht, sondern sie sind der Ausdruck von Selektionsvorgängen, die eine gesteigerte Mutabilität vortäuschen.

Die zweite Deutungsmöglichkeit wurde geprüft durch schwache Bestäubungen. Doch zeigte sich hierbei, daß das Verhältnis der Rückmutanten in beiden Geschlechtern nicht verschoben war.

| | Gesamtzahl | *gram* | *Gram* | *Gram* % |
|---|---|---|---|---|
| Linie b *gram*$^{mut}$ × *gram*$^{const}$ . . . . . | 6195 | 5744 | 451 | 7,28 |
| Linie b *gram*$^{const}$ × *gram*$^{mut}$ . . . . . | 6616 | 5692 | 924 | 13,98 |

Erst cytologische Untersuchungen an mutablen *graminifolia*-Pflanzen erbrachten weitere Aufklärung über das Wesen der hier beschriebenen Vorgänge. Über die ersten Ergebnisse cytologischer Arbeit wird nachstehend berichtet werden.

## III. Karyologische Befunde.

### *1. Übersicht.*

Eine orientierende Voruntersuchung von Pollenmutterzellen mittels der von Ernst (1938) und Pohlendt (1942a) modifizierten Heitzschen KES-Methode ergab, daß die *graminifolia*-Pflanzen durch eine prophasische Verklebungstendenz der Chromosomen charakterisiert sind. Das erste Anzeichen für die Verklebungstendenz ist im Zygotän und Pachytän festzustellen, wo nach vollzogener Homologenpaarung die heterochromatischen Knöpfe verschiedener Bivalente miteinander verkleben können. Häufig nehmen auch andere heterochromatische Chromosomenabschnitte, meist solche aus der Kinetochorenregion der einzelnen Bivalente, an der Verklebung teil. Die Verklebungstendenz der Chromosomen bleibt bis zur Diakinese bestehen, so daß in diesem Stadium vorwiegend Multivalente formiert sind, die zum größten Teil Pseudo-Multivalente darstellen und sich anschließend beim Übergang zur Metaphase-I wieder in einzeln liegende Bivalente trennen. Der Anteil echter Multivalente, die auf Chromosomenumbauten mit chiasmatischen Bindungen beruhen und in der Metaphase-I zur Bildung von ring- und kettenförmigen Komplexen führen, ist dagegen deutlich geringer. Während der Anaphase-I macht sich die Verklebungstendenz der Chromosomen nicht weiter bemerkbar, und erst zwischen der Interkinese und der Metaphase-II ist wieder vorübergehend ein Zusammenklumpen der Chromosomen festzustellen, das jedoch ohne Wirkung auf den normalen Ablauf der Anaphase-II bleibt.

Eine Neigung der Chromosomen zum Verkleben während der meiotischen Prophasen besteht in deutlich geringerem Grade auch bei phänotypisch normalen Linien der Sippe 50 und kann in dieser Form als Norm dienen, da die verschiedenen *graminifolia*-Linien aus der Sippe 50 hervorgegangen sind.

### *2. Die Verklebungstendenz in den verschiedenen Linien.*

**a) Die Bestimmung des Verklebungsgrades.** Um für die 5 eingehender untersuchten Linien (Sippe 50, $gram^{mut\text{-}b}$, $gram^{mut\text{-}a}$, $gram^{const}$ und Rückmutanten aus der Linie $gram^{mut\text{-}b}$) die Stärke der jeweiligen Verklebungstendenz zu ermitteln, wurden von jeder Linie 300 Diakinesen und 300 Metaphasen-II hinsichtlich der Chromosomenformierung ausgezählt. Die Auszählungen innerhalb der Linien wurden an mehreren Pflanzen gewonnen, indem von den einzelnen Pflanzen je eine beliebig herausgegriffene Gruppe von 100 Diakinesen bzw. Metaphasen-II gezeichnet und jede Zelle hinsichtlich ihres allgemeinen Verklebungsgrades klassifiziert wurde.

*Die Klassifizierung der Diakinesen.* Die 1. Klasse erfaßt alle Diakinesen ohne Verklebungserscheinungen. Die 16 Chromosomen bilden dabei 8 isoliert liegende Bivalente. Außerdem wurden zu dieser Klasse auch vereinzelt vorkommende Diakinesen gerechnet, bei denen nicht alle 16 Chromosomen als Bivalente, sondern einige als Univalente auftraten. (Diakinesen mit Univalenten neben Quadrivalenten und höheren Chromosomenformationen wurden nicht gefunden.)

Die 2. Klasse enthält alle Diakinesen, bei denen neben normalen Bivalenten ein oder mehrere Quadrivalente gebildet werden, wobei im Einzelfall nicht unterschieden werden konnte, ob das betreffende Quadrivalent ein echtes ist oder durch Verklebung als Pseudo-Quadrivalent entstanden ist. (Zellen mit 4 Quadrivalenten wurden nicht gefunden.)

Die 3. Klasse enthält solche Diakinesen, die durch das Vorkommen von ein oder zwei Hexavalenten neben Bivalenten und Quadrivalenten charakterisiert sind; ebenfalls ohne Unterscheidung von echten und Pseudo-Hexavalenten.

Die 4. Klasse umfaßt alle Diakinesen, bei denen Multivalente aus 8 und mehr Chromosomen gebildet werden; wieder ohne Unterscheidung von echten und Pseudo-Multivalenten.

Tabelle 1. *Die Häufigkeiten der Verklebungsklassen in der Diakinese.*

| | Sippe 50 | | | | *gram*$^{mut-b}$ | | | | *gram*$^{mut-a}$ | | | | *gram*$^{const}$ | | | | Rückmutanten aus *gram*$^{mut-b}$ | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Pflanzen Nr. | | | | Pflanzen Nr. | | | | Pflanzen Nr. | | | | Pflanzen Nr. | | | | Pflanzen Nr. | | | |
| | 1 D | 1 F | 704/ 906 V | M | 4 F | 1401 C | 1401 V | M | 3 C | 3 I | 30 | M | 45 F | 1403 AQ | 1403 C | M | 1401 RA | 1401 RC | 1401 RD | M |
| 1. Klasse | 29 | 27 | 28 | 28,0 | 12 | 6 | 13 | 10,3 | 6 | 7 | 6 | 6,3 | 3 | 1 | 1 | 1,7 | 30 | 47 | 20 | 32,3 |
| 2. Klasse | 51 | 33 | 53 | 45,7 | 59 | 28 | 46 | 44,3 | 38 | 34 | 46 | 39,3 | 18 | 23 | 36 | 25,7 | 35 | 37 | 46 | 39,3 |
| 3. Klasse | 16 | 25 | 13 | 18,0 | 18 | 30 | 21 | 23,0 | 18 | 19 | 29 | 22,0 | 19 | 22 | 22 | 21,0 | 24 | 6 | 11 | 13,7 |
| 4. Klasse | 4 | 15 | 6 | 8,3 | 11 | 36 | 20 | 22,3 | 38 | 40 | 19 | 32,3 | 60 | 54 | 41 | 51,7 | 11 | 10 | 23 | 14,7 |
| n | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — |

*Die Klassifizierung der Metaphasen-II.* Zur Klassifizierung der Verklebungszustände in der frühen Metaphase-II wurden zunächst 3 Typen der Formierung unterschieden, in denen die 8 Chromosomen einer Metaphasengruppe auftreten können: normale Formierung, partielle Komplexbildung und totale Komplexbildung. Bei der normalen Formierung liegen alle 8 Chromosomen einzeln. Bei der partiellen Komplexbildung ist ein Teil der Chromosomen miteinander verklebt, während die restlichen Chromosomen isoliert liegen. Bei der totalen Komplexbildung sind alle 8 Chromosomen zu einem großen Komplex vereinigt, der häufig eine ketten-, ring- oder schleifenförmige Gestalt besitzt.

In die 1. Klasse der Metaphasen-II wurden alle PMZ genommen, bei denen beide Metaphasengruppen völlig normale Formierung der Chromosomen aufweisen. Die wenigen, vereinzelt vorkommenden PMZ, bei denen eine Metaphasengruppe normale Formierung, die andere dagegen partielle Verklebung der Chromosomen zeigte, wurden ebenfalls zu dieser Klasse gezählt. (PMZ mit einer normalen und einer total verklebten Metaphasengruppe wurden nicht gefunden.)

Die 2. Klasse umfaßt die PMZ, bei denen beide Metaphasengruppen partielle Komplexbildungen aufweisen.

Die 3. Klasse enthält die PMZ, bei denen die Chromosomen der einen Metaphasengruppe total, die der anderen partiell verklebt sind.

Die 4. Klasse setzt sich aus PMZ zusammen, bei denen beide Metaphasengruppen als Totalkomplexe vorliegen.

**b) Die Abstufung der Verklebungstendenz.** Ein Vergleich der Auszählungen läßt erkennen, daß die Stärke der Verklebungstendenz zwischen den verschiedenen Linien abgestuft ist. Am deutlichsten kommt diese Abstufung in den beiden Extremklassen der Diakinesen zum Ausdruck (Tabelle 1). Mit zunehmender Verklebungstendenz verringert sich die Häufigkeit der normalen Diakinesen der 1. Klasse, und antagonistisch dazu erhöht sich die Häufigkeit der Diakinesen der 4. Klasse, welche die Gesamtheit der Zellen mit stärkeren Verklebungseffekten repräsentiert (Abb. 2). Die Veränderungen in den Häufigkeiten der Mittelklassen sind dagegen weniger markant. Trotzdem läßt die normalere der beiden Klassen, die Klasse 2, ein geringes Abfallen der Häufigkeit in den *graminifolia*-Linien erkennen, das bei *gram*$^{const}$ am deutlichsten ist und dem besonders hohen Verklebungsgrad in dieser Linie entspricht. Die 3. Klasse zeigt eine nur geringe, gleichmäßige Erhöhung der Häufigkeit bei allen *graminifolia*-Linien, was mit der allgemein erhöhten Verklebungstendenz dieser Linien gegenüber der Sippe 50 und den Rückmutanten zwar in

Einklang steht, aber keine Differenzierung der verschiedenen *graminifolia*-Linien zuläßt. Von diesen weniger markanten Schwankungen abgesehen, bleiben die Häufigkeiten der beiden Mittelklassen annähernd immer auf der gleichen Höhe. Daraus darf geschlossen werden, daß das Vorkommen von Zellen der beiden Mittelklassen in allen 5 untersuchten Linien die Regel ist und zunächst keinen direkten Zusammenhang mit dem *graminifolia*-Phänomen erkennen läßt, während andererseits die starken Veränderungen in den Extremklassen eine Korrelation zu der unterschiedlichen Stabilität des *graminifolia*-Gens anzeigen.

Im vorstehenden Fall ist jedoch bei der Klassifizierung nach dem Verklebungsgrad der einzelnen diakinetischen Zelle eine Fehlermöglichkeit dadurch gegeben, daß in den Klassen 2 bis 4 das Verhältnis von normalen Bivalenten zu niedrigeren Polyvalenten, worin sich die Verklebungstendenz ebenfalls widerspiegelt, nicht immer richtig zum Ausdruck kommt. So genügt z. B. bereits ein Quadrivalent neben 6 Bivalenten, um die Zugehörigkeit der Zelle zur Klasse 2 zu bestimmen, während andererseits eine Zelle mit 3 Quadrivalenten und 2 Bivalenten auch zu dieser Klasse gerechnet werden muß, obwohl in ihr ein stärkerer Verklebungseffekt vorliegt. Um solche Fehlermöglichkeiten auszuschalten, wurden an Hand der 1500 ausgezählten Diakinesen für jede Pflanze die Gesamtzahlen der verschiedenen Paarungsformationen und der daran beteiligten Chromosomen zusammengestellt und die entsprechenden Häufigkeiten in den 5 Linien verglichen.

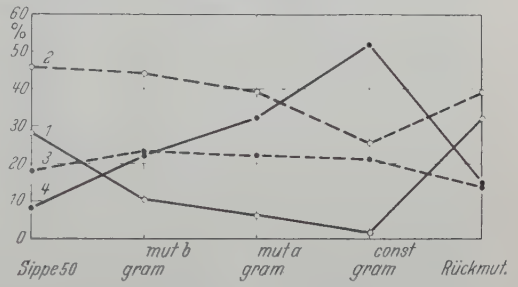



Abb. 2. Durchschnittliche Häufigkeit der Verklebungsklassen in der Diakinese.

Auch diese Aufschlüsselung (Tabelle 2 und Abb. 3), bei der nicht der allgemeine Verklebungsgrad der Zelle, sondern die Paarungsformation jedes einzelnen Chromosoms die Grundlage zur Klassifizierung abgibt, führt zu dem gleichen Ergebnis. Während die Häufigkeit der Quadri- und Hexavalente in allen Linien fast gleich ist, kommt wieder in den beiden Extremklassen die enge Beziehung der Verklebungstendenz zu der jeweiligen Stabilität des *graminifolia*-Gens zum Ausdruck. Mit zunehmender Stabilität des *graminifolia*-Gens steigt die Häufigkeit der höheren Multivalente auf Kosten der normalen Bivalentbildung.

Entsprechende Verhältnisse ergeben sich im wesentlichen auch aus dem Vergleich der Verklebungseffekte in den Metaphasen-II (Tabelle 3 und Abb. 4). Am ausgeprägtesten sind die Unterschiede in der 1. Klasse, bei der Bildung normaler Metaphasengruppen. Die Abstufung der Häufigkeiten vollzieht sich hier in gleicher Weise wie bei der 1. Klasse der Diakinesen. Dabei fällt auf, daß in den homozygoten Rückmutanten die Häufigkeit der normalen Metaphasen-II höher als bei der Sippe 50 ist. Entsprechend der niedrigsten Häufigkeit der 1. Klasse bei der Linie $gram^{const}$ erreicht die 4. Klasse hier ihren höchsten Stand, jedoch kommt zwischen den beiden Extremklassen kein klarer Antagonismus bezüglich der Abstufung zustande, da die gesteigerte Verklebungstendenz der Linie $gram^{mut\text{-}a}$ sich nicht in einer Zunahme der Metaphasen mit Totalverklebung, sondern vielmehr in einem Überwiegen der Metaphasen mit partiellen Verklebungen beider Chromosomengruppen äußert, so daß die 2. Klasse bei $gram^{mut\text{-}a}$ überhaupt die häufigste ist und dort ihr Maximum erreicht. Im

Tabelle 2. *Gesamtzahlen der Chromosomen-Formationen während der Diakinese.* a = Gesamtzahl der an a beteiligten Chromosomen, M = Linien-Mittelwert von a bzw. b, c =

| Linie | | Sippe 50 Pflanzen Nr. 1 D | 1 F | 704/906 V | M | c % | *gram*$^{mut-b}$ Pflanzen Nr. 4 F | 1401 C | 1401 V | M | c % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | a | 12 | 6 | 8 | 8,7 | — | 4 | 0 | 14 | 6 | — |
| | b | 12 | 6 | 8 | 8,7 | 0,5 | 4 | 0 | 14 | 6 | 0,4 |
| II | a | 596 | 520 | 580 | 565,3 | — | 502 | 313 | 449 | 421,3 | — |
| | b | 1192 | 1040 | 1160 | 1130,7 | 70,7 | 1004 | 626 | 898 | 842,7 | 52,7 |
| IV | a | 67 | 63 | 76 | 68,7 | — | 93 | 100 | 89 | 94 | — |
| | b | 268 | 252 | 304 | 274,7 | 17,2 | 372 | 400 | 356 | 376 | 23,5 |
| VI | a | 16 | 27 | 13 | 18,7 | — | 20 | 30 | 23 | 24,3 | — |
| | b | 96 | 162 | 78 | 112 | 7,0 | 120 | 180 | 138 | 146 | 9,1 |
| VIII | a | 4 | 9 | 5 | 6 | — | 6 | 14 | 10 | 10 | — |
| | b | 32 | 72 | 40 | 48 | 3,0 | 48 | 112 | 80 | 80 | 5,0 |
| X | a | 0 | 4 | 1 | 1,7 | — | 4 | 13 | 6 | 7,7 | — |
| | b | 0 | 40 | 10 | 16,7 | 1,0 | 40 | 130 | 60 | 76,7 | 4,8 |
| XII | a | 0 | 1 | 0 | 0,3 | — | 1 | 4 | 2 | 2,3 | — |
| | b | 0 | 12 | 0 | 4 | 0,3 | 12 | 48 | 24 | 28 | 1,8 |
| XIV | a | 0 | 0 | 0 | 0 | — | 0 | 4 | 1 | 1,6 | — |
| | b | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,0 | 0 | 56 | 14 | 23,3 | 1,5 |
| XVI | a | 0 | 1 | 0 | 0,3 | — | 0 | 3 | 1 | 1,3 | — |
| | b | 0 | 16 | 0 | 5,3 | 0,3 | 0 | 48 | 16 | 21,3 | 1,3 |
| ΣVIII—XVI | a | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | b | 32 | 140 | 50 | 74,0 | 4,6 | 100 | 394 | 194 | 229,3 | 14,3 |

übrigen zeigt auch die 2. Klasse, daß die Rückmutanten weniger Verklebungseffekte als die Pflanzen der Sippe 50 aufweisen. Die Häufigkeiten der 3. Klasse, zu deren Charakterisierung beide Verklebungseffekte, sowohl die partiellen als auch die totalen Komplexbildungen, beitragen, lassen wieder deutlich die Beziehung zwischen der Stärke der Verklebungstendenz und den verschiedenen Allelen des *Gram*-Gens erkennen.

Im Vergleich zum Ausgangsmaterial der Mutationsversuche, der Sippe 50, ist demnach in *graminifolia*-Pflanzen die Verklebungstendenz der Chromosomen in den meiotischen Prophasen erhöht, wobei mit zunehmender Stabilität des *graminifolia*-Gens in den verschiedenen Linien eine stufenweise Steigerung der Verklebungstendenz von *gram*$^{mut-b}$ über *gram*$^{mut-a}$ zu *gram*$^{const}$ einhergeht. Dementsprechend weisen die aus beiden mutablen Linien hervorgehenden Rückmutanten, die phänotypisch der Sippe 50 gleichen, wieder einen geringeren Verklebungsgrad auf, der bei homozygoten Rückmutanten häufig sogar noch etwas unter dem der Sippe 50 liegt.

### *3. Die bisherigen Ergebnisse der Pachytänanalyse.*

Die beobachtete Verklebungstendenz der Chromosomen ließ eine besondere Beteiligung der heterochromatischen Abschnitte erwarten. Zu ihrer näheren Untersuchung wurde deshalb mit der Pachytänanalyse des *graminifolia*-Materials begonnen. Zunächst mußten, aufbauend auf der von Ernst (1938, 1939) und Resende (1940) durchgeführten morphologischen Identifizierung der 8 *Antirr-*

zahl einer bestimmten Chromosomen-Formation in 100 Diakinesen einer Pflanze, b = Gesamt-Anteil von Mb an der bei jeder Pflanze erfaßten Gesamtzahl von 1600 Chromosomen.

| *gram*$^{mut-a}$ Pflanzen Nr. | | | | | *gram*$^{const}$ Pflanzen Nr. | | | | | Rückmutanten aus *gram*$^{mut-b}$ Pflanzen Nr. | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 C | 3 I | 30 | M | c % | 45 F | 1403 AQ | 1403 C | M | c % | 1401 RA | 1401 RC | 1401 RD | M | c % |
| 2 | 8 | 2 | 4 | — | 4 | 2 | 2 | 2,7 | — | 0 | 0 | 0 | 0 | — |
| 2 | 8 | 2 | 4 | 0,3 | 4 | 2 | 2 | 2,7 | 0,2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,0 |
| 351 | 347 | 441 | 379,7 | — | 261 | 247 | 334 | 280,7 | — | 543 | 583 | 478 | 534,7 | — |
| 702 | 694 | 882 | 759,3 | 47,5 | 522 | 494 | 668 | 561,3 | 35,1 | 1086 | 1166 | 956 | 1069,3 | 66,8 |
| 93 | 75 | 92 | 86,7 | — | 51 | 94 | 94 | 79,7 | — | 65 | 75 | 80 | 73,3 | — |
| 372 | 300 | 368 | 346,7 | 21,7 | 204 | 376 | 376 | 318,7 | 19,9 | 260 | 300 | 320 | 293,3 | 18,3 |
| 21 | 24 | 29 | 24,7 | — | 29 | 30 | 26 | 28,3 | — | 24 | 8 | 13 | 15 | — |
| 126 | 144 | 174 | 148 | 9,3 | 174 | 180 | 156 | 170 | 10,6 | 144 | 48 | 78 | 90 | 5,6 |
| 15 | 14 | 12 | 13,7 | — | 16 | 25 | 19 | 20 | — | 4 | 8 | 10 | 7,3 | — |
| 120 | 112 | 96 | 109,3 | 6,8 | 128 | 200 | 152 | 160 | 10,0 | 32 | 64 | 80 | 58,7 | 3,7 |
| 8 | 7 | 5 | 6,7 | — | 15 | 13 | 9 | 12,3 | — | 5 | 1 | 3 | 3 | — |
| 80 | 70 | 50 | 66,7 | 4,2 | 150 | 130 | 90 | 123,3 | 7,7 | 50 | 10 | 30 | 30 | 1,9 |
| 8 | 8 | 0 | 5,3 | — | 10 | 6 | 8 | 8 | — | 1 | 1 | 5 | 2,3 | — |
| 96 | 96 | 0 | 64 | 4,0 | 120 | 72 | 96 | 96 | 6,0 | 12 | 12 | 60 | 28 | 1,8 |
| 5 | 8 | 2 | 5 | — | 11 | 7 | 2 | 6,7 | — | 0 | 0 | 2 | 0,7 | — |
| 70 | 112 | 28 | 70 | 4,4 | 154 | 98 | 28 | 93,3 | 5,8 | 0 | 0 | 28 | 9,3 | 0,6 |
| 2 | 4 | 0 | 2 | — | 9 | 3 | 2 | 4,6 | — | 1 | 0 | 3 | 1,3 | — |
| 32 | 64 | 0 | 32 | 2,0 | 144 | 48 | 32 | 74,7 | 4,7 | 16 | 0 | 48 | 21,3 | 1,3 |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 398 | 454 | 174 | 342 | 21,4 | 696 | 548 | 398 | 547,3 | 34,2 | 110 | 86 | 246 | 147,3 | 9,2 |

*hinum*-Chromosomen, weitere neue Merkmale festgestellt werden, um die Unterscheidung der bei *graminifolia*-Pflanzen meist sehr unübersichtlich liegenden Pachytänchromosomen sicherer vornehmen zu können. Außerdem wurde durch den Umstand, daß die Koppelungsgruppe des *Gram*-Gens bisher cytogenetisch nicht bestimmt ist, die Pachytänanalyse wesentlich erschwert. Alle Lokalisationsversuche für das Gen mußten indirekt geführt werden, so daß die diesbezüglichen Ergebnisse vorläufig nur den Wert einer Arbeitshypothese haben. Lediglich das 2. Chromosom scheidet von vornherein für die Lokalisation des *Gram*-Gens aus, da nach Pohlendt (1942a) dieses Chromosom die *Uni*-Koppelungsgruppe trägt, zu der das *Gram*-Gen nicht gehört (Kuckuck 1935, Schick 1935). Um unter den verbleibenden 7 Chromosomen die Möglichkeit für die Lokalisation weiter einzuengen, wurde untersucht, ob die Pachytänchromosomen der *graminifolia*-Pflanzen sich im Vergleich zu denen der Sippe 50 anders verhalten und ob unter den gefundenen Veränderungen sich solche befinden, die für *graminifolia*-Pflanzen charakteristisch sind.

Neben einer Reihe untypischer Chromosomenaberrationen wurde bei allen *graminifolia*-Linien ein aus 3 bivalenten Chromosomen bestehender Verband gefunden, der durch seine Form besonders auffällt und im folgenden als Dreierkonfiguration bezeichnet werden soll (Abb. 5—8). Bei dieser Dreierkonfiguration sind 3 Chromosomen mit je einem Ende in einem größeren, stark gefärbten, heterochromatischen Sammelknopf vereinigt. Die erweiterte Pachytänanalyse

Tabelle 3. *Die Häufigkeiten der Verklebungsklassen in der Metaphase-II.*

| | Sippe 50 Pflanzen Nr. | | | | *gram*$^{mut-b}$ Pflanzen Nr. | | | *gram*$^{mut-a}$ Pflanzen Nr. | | | | *gram*$^{const}$ Pflanzen Nr. | | | | Rückmutanten aus *gram*$^{mut-b}$ Pflanzen Nr. | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 F | 1 S | 704/ 906 II | M | 1401 C | 1401 M | 1401 V | M | 3 C | 3 I | 30 | M | 1403 AB | 1403 BD | 1403 D | M | 1401 RB | 1404 RE | 1404 RL | M |
| 1. Klasse | 30 | 19 | 47 | 32,0 | 11 | 9 | 8 | 9,3 | 1 | 0 | 0 | 0,3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 53 | 35 | 82 | 56,7 |
| 2. Klasse | 45 | 37 | 51 | 44,3 | 32 | 45 | 50 | 42,3 | 80 | 63 | 34 | 59,0 | 23 | 22 | 46 | 30,3 | 24 | 30 | 10 | 21,3 |
| 3. Klasse | 20 | 38 | 2 | 20,0 | 32 | 26 | 34 | 30,7 | 17 | 30 | 49 | 32,0 | 41 | 44 | 36 | 40,3 | 15 | 23 | 7 | 15,0 |
| 4. Klasse | 5 | 6 | 0 | 3,7 | 25 | 20 | 8 | 17,7 | 2 | 7 | 17 | 8,7 | 36 | 34 | 18 | 29,3 | 8 | 12 | 1 | 7,0 |
| n | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — | 100 | 100 | 100 | — |

ermöglichte es, in allen Fällen die daran beteiligten Chromosomen als 3., 4. und 6. zu identifizieren.

Das 3. und 4. Chromosom sind, wie schon die Untersuchungen von Ernst (1939) gezeigt haben, Nucleolus-Chromosomen und tragen jedes an einem Ende einen heterochromatischen Knopf. Zur

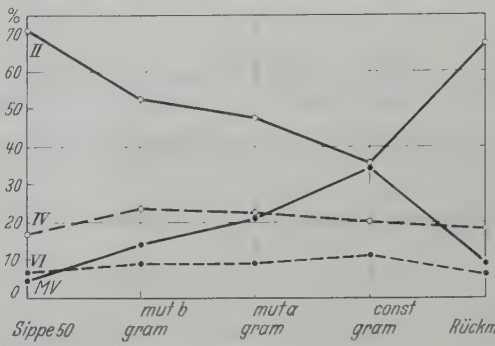



Abb. 3. Durchschnittliche Häufigkeit der verschiedenen Chromosomenformationen während der Diakinese (*II* Bivalente, *IV* Quadrivalente, *VI* Hexavalente, *MV* Summe der höheren Multivalente).

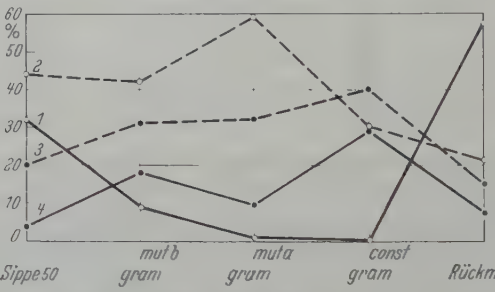



Abb. 4. Durchschnittliche Häufigkeit der Verklebungsklassen in der Metaphase-II.

Unterscheidung der beiden gleich langen Chromosomen führt Ernst an, daß auf dem 3. Chromosom „zwischen dem Endknopf und der Kommissur 2 charakteristische Chromomeren liegen, die durch ein kurzes, sehr schwach gefärbtes Stück getrennt sind". Bei unseren Untersuchungen war die Trennung dieser beiden Chromomeren nur selten im frühen Pachytän und bei starker Dehnung des Chromosoms zu erkennen, so daß fast überall, unabhängig von den verschiedenen Linien, die beiden Chromomeren als eine einzige knopfförmige Sammelchromomere angetroffen wurden. Als neues Unterscheidungsmerkmal konnte festgestellt werden, daß das 4. Chromosom aus zwei Abschnitten besteht, die hinsichtlich ihrer Färbungsintensität

verschieden sind. Die mit dem Terminalknopf endende Hälfte des 4. Chromosoms setzt sich aus kräftig gefärbten Chromomeren zusammen, während die Chromomeren der anderen Hälfte durchweg schwächer gefärbt sind. In der Mitte des Chromosoms, an der Grenze zwischen der kräftig und der schwach gefärbten

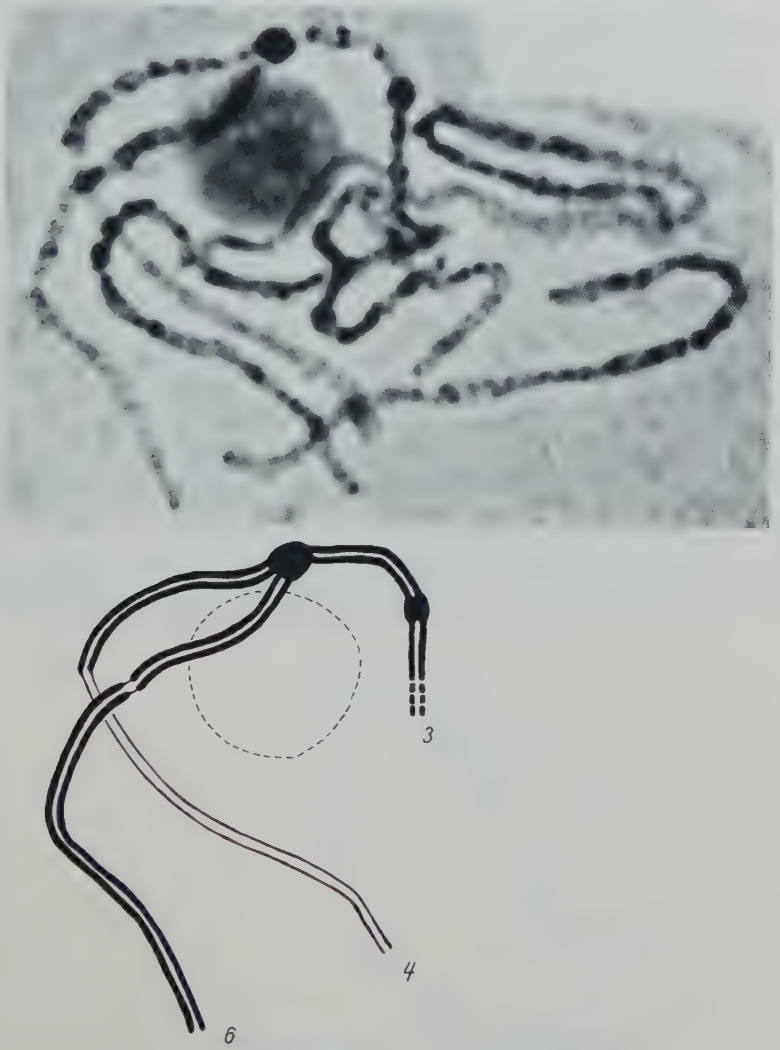



Abb. 5. Dreierkonfiguration bei *gram*$^{mut\ b}$. 4000mal.

Hälfte, liegt eine Chromomere, die deutlicher hervortritt und bei der das Chromosom häufig einen mehr oder weniger scharfen Knick aufweist.

Das 6. Chromosom, das mit dem 3. und 4. in die gleiche Längengruppe gehört, zeichnet sich nach Ernst durch „eine auffallend lange achromatische Kommissur aus, an die sich nach beiden Seiten eine Reihe stark gefärbter Chromomeren anschließt. Die Kommissur ist in diesem Fall stark submedian gelagert" und teilt somit das Chromosom in 2 verschieden lange Arme. Als weiteres Merkmal,

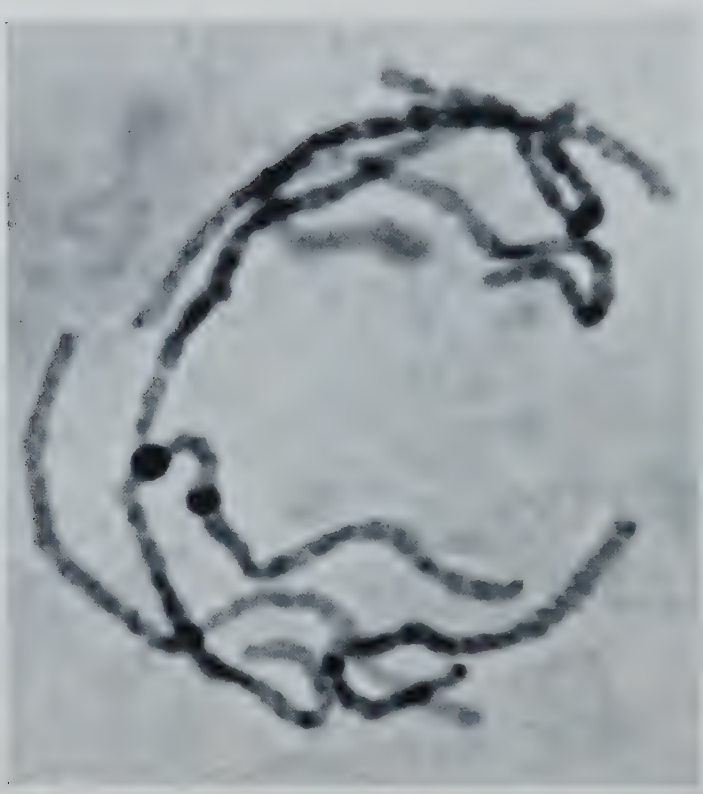


Abb. 6. Dreierkonfiguration bei *gram*$^{mut\text{-}b}$, Nucleolus durch die Quetschpräparation weggedrückt. 4000mal.

das von Ernst schon abgebildet, aber nicht weiter als charakteristisch befunden wurde, kommt hinzu, daß die proximal gelegene Chromomerenreihe des kurzen Armes länger und kräftiger ist als die entsprechende des langen Armes. Während

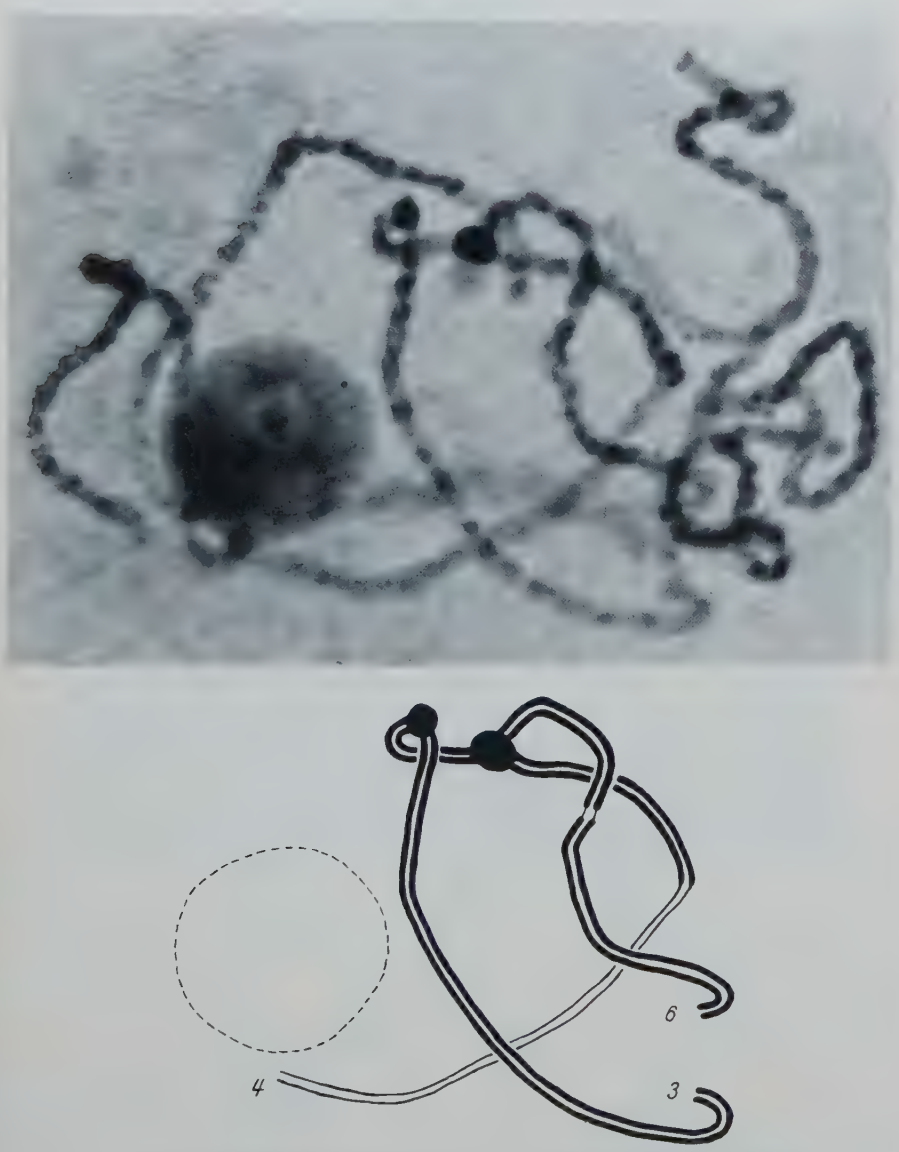



Abb. 7. Dreierkonfiguration bei *gram*$^{const}$ im frühen Pachytän. 4000mal.

Ernst das Vorkommen von Endknöpfen nur bei den Chromosomen 3 und 4 festgestellt hat, scheint nach unseren Untersuchungen auch das 6. Chromosom bei der Sippe 50 einen kleinen Terminalknopf zu besitzen, der das Ende des kurzen Armes bildet und dort bei günstiger Färbung und Lage des Chromosoms zu erkennen ist. Auffallend deutlich aber tritt dieser Terminalknopf bei homo-

zygoten Rückmutanten aus den mutablen *graminifolia*-Linien in Erscheinung, wo an diesem Knopf häufig ein kleiner Nebennucleolus ausgebildet ist (Abb. 9, 10).

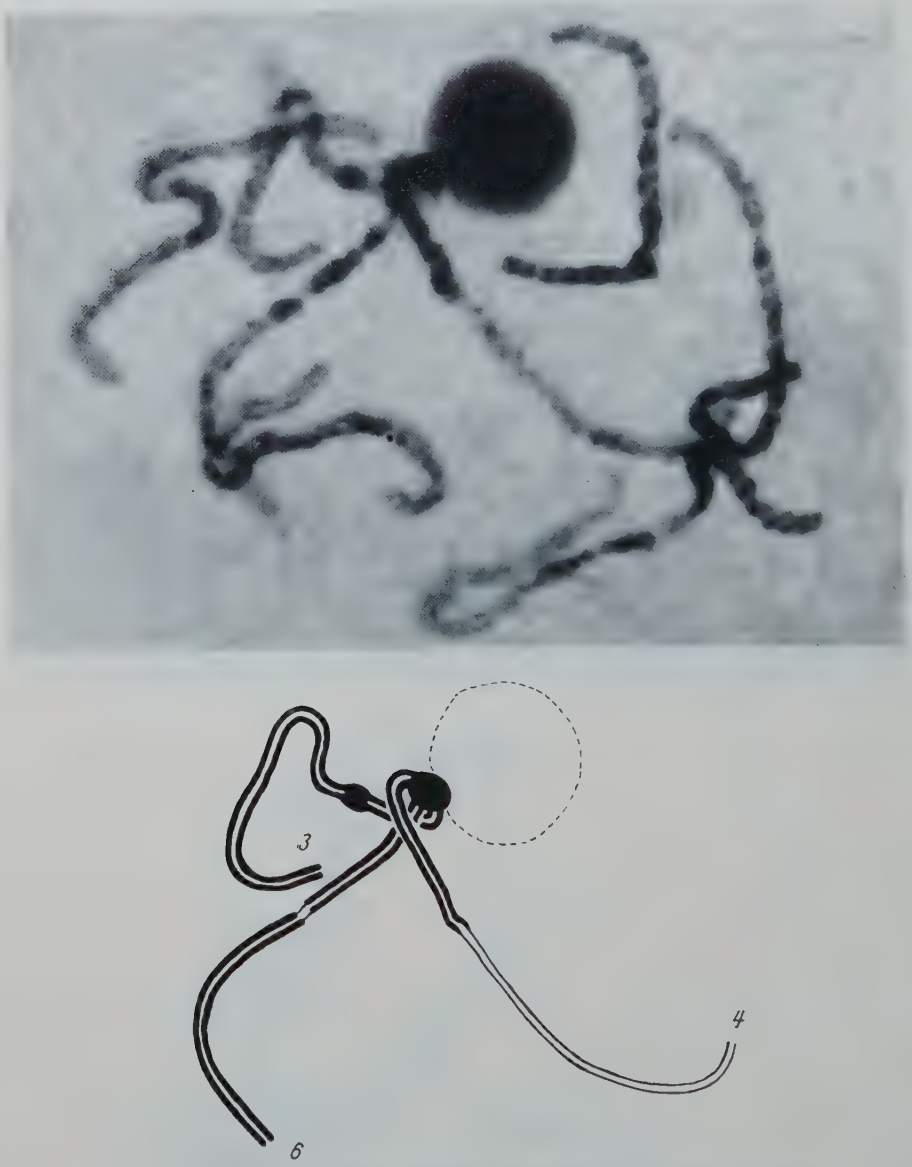



Abb. 8. Dreierkonfiguration bei *gram*$^{const}$ im späten Pachytän. 4000mal.

Die charakteristische Dreierkonfiguration entsteht nun dadurch, daß sich schon frühzeitig im Zygotän die Terminalknöpfe der Chromosomen 3, 4 und 6 zu einem größeren Sammelknopf vereinigen (Abb. 11, 12), wobei die einzelnen Knöpfe nicht immer gleichzeitig, sondern auch nacheinander zusammentreten können (Abb. 13). In solchem Fall ist es immer das 3. Chromosom, das als

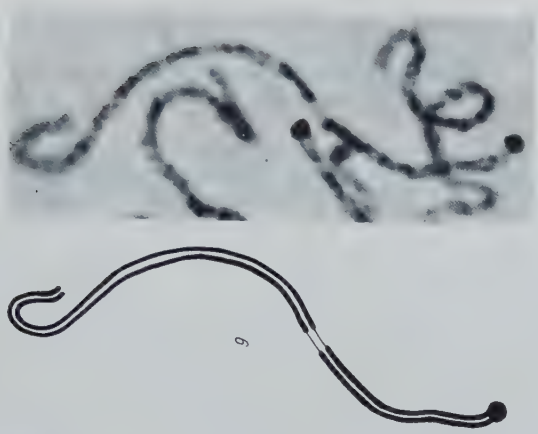



Abb. 9. Rückmutante aus *gram*$^{mut\text{-}b}$. Chromosom 6 isoliert liegend mit Terminalknopf. 3000mal.

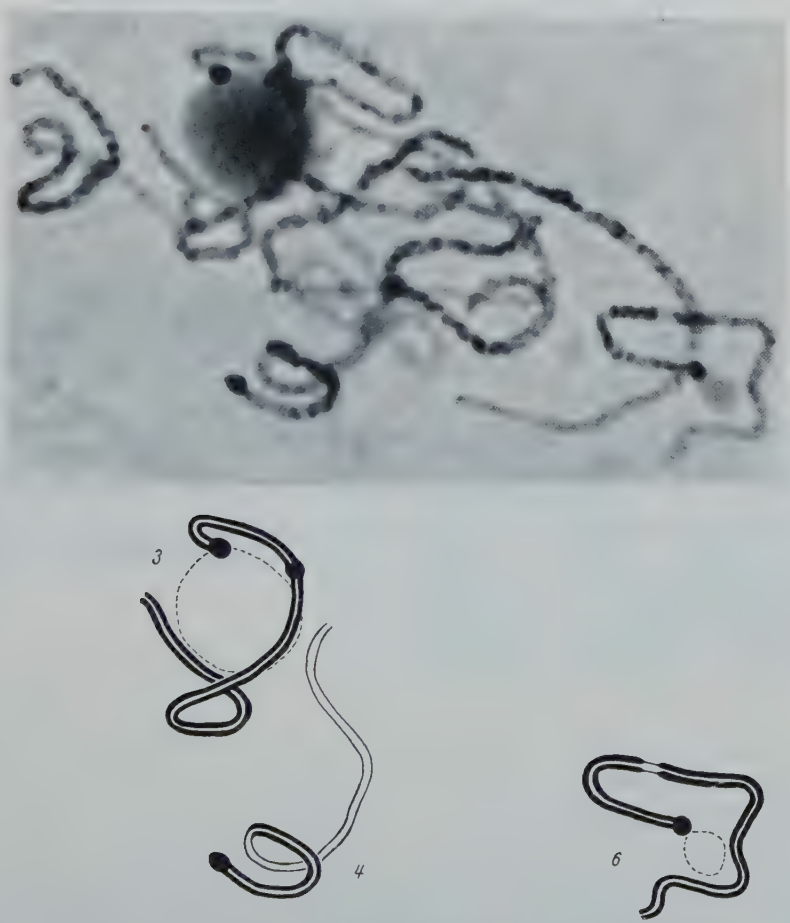



Abb. 10. Rückmutante aus *gram*$^{mut\text{-}b}$. Die Chromosomen 3, 4 und 6 liegen einzeln. Chromosom 6 mit Terminalknopf und Nebennucleolus. 3000mal.

letztes in den Sammelknopf einbezogen wird, da sich die Chromosomen 4 und 6 schon vorher terminal vereinigt haben.

In den Pflanzen der Sippe 50 und in Rückmutanten aus beiden mutablen Linien wurden keine Dreierkonfigurationen gefunden. Die 3 betreffenden

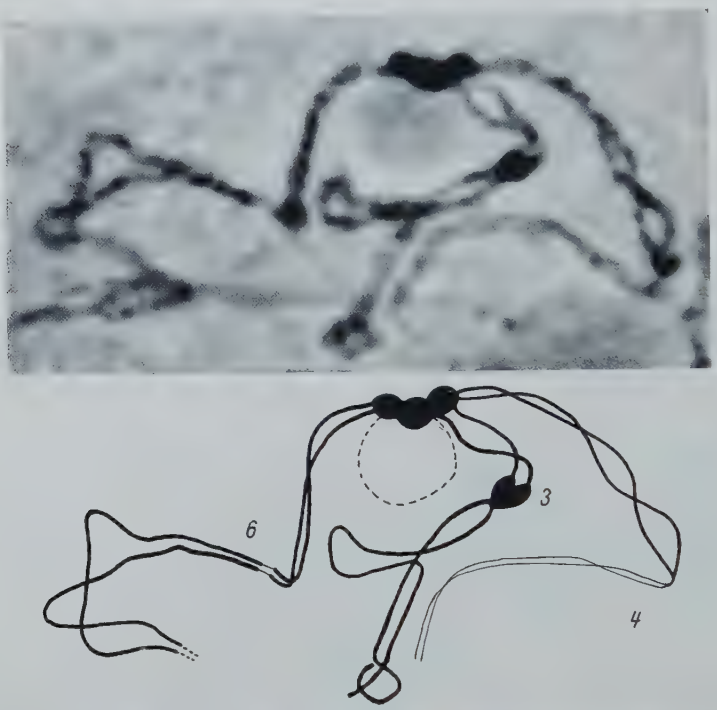



Abb. 11. Spätes Zygotän aus *gram*$^{mut\text{-}b}$. Bei Chromosom 3 stärkere Paarungsstörungen infolge ausgedehnterer Inhomologien. 4000mal.

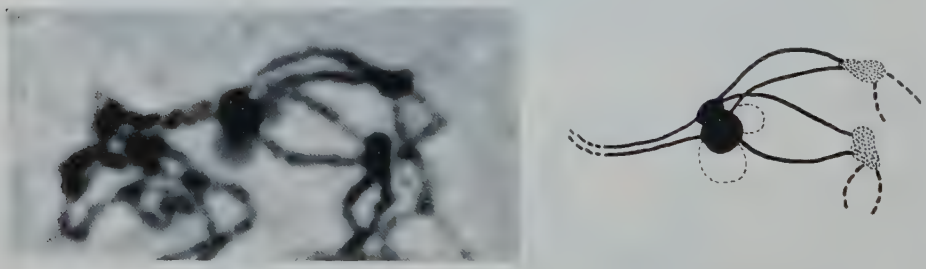


Abb. 12. Frühes Zygotän bei *gram*$^{mut\text{-}b}$. Bildung der Dreierkonfiguration. 4000mal.

Chromosomen liegen hier entweder einzeln, oder nur die Chromosomen 3 und 4 vereinigen sich mit ihren Terminalknöpfen (Abb. 14) und bilden so eine Zweierkonfiguration, während das 6. Chromosom frei bleibt.

Neben der für alle *graminifolia*-Pflanzen typischen Dreierkonfiguration macht sich auch im Pachytän eine Steigerung der Verklebungstendenz von *gram*$^{mut\text{-}b}$ über *gram*$^{mut\text{-}a}$ zu *gram*$^{const}$ bemerkbar, indem die übrigen heterochromatischen Chromosomenabschnitte miteinander in mehr oder weniger großem Umfang verkleben. Auf die genauere Ermittlung der jeweiligen Stärke des Verklebungsgrades im Pachytän der einzelnen Linien wurde jedoch

verzichtet, da die Sammlung eines umfangreichen, zur Auszählung geeigneten Materials bei der im *Antirrhinum*-Fall relativ unergiebigen Pachytänpräparation zu zeitraubend gewesen wäre. Hingegen wurden ausgedehnte Untersuchungen der Pachytänverhältnisse bei den verschiedenen Bastardkombinationen eingeleitet, um eventuell vorhandene spezifische Chromosomenumbauten analysieren zu können.

### *4. Die karyologischen Hauptbefunde.*

Die Zusammenfassung der bisherigen karyologischen Ergebnisse läßt 3 Hauptbefunde hervortreten: 1. Die abgestufte Verklebungstendenz der Chromosomen

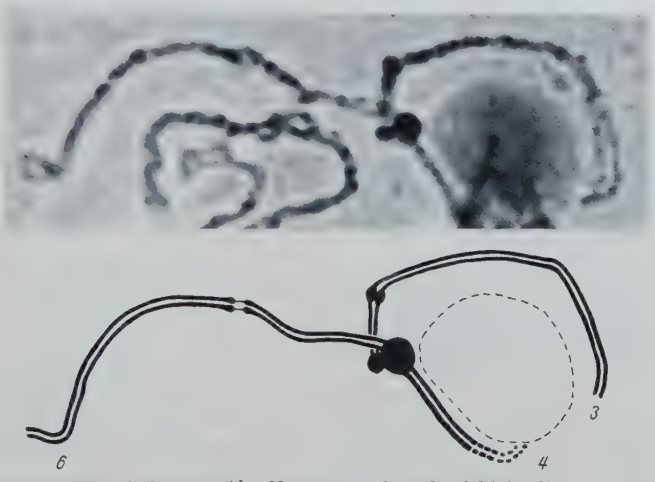



Abb. 13. Spätes Zygotän bei *gram*$^{mut\text{-}b}$. Chromosom 3 noch nicht in die Dreierkonfiguration eingefügt. 3000mal.

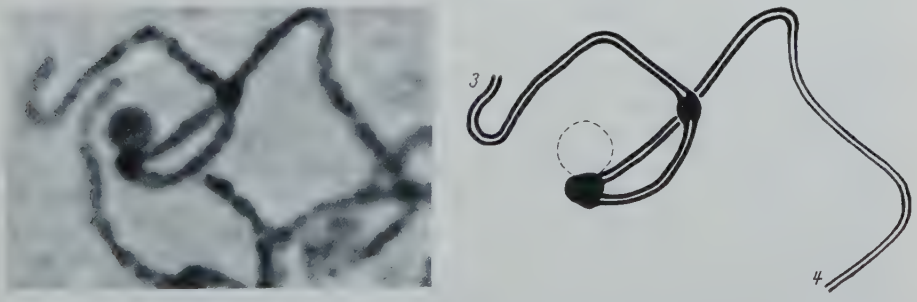



Abb. 14. Pachytän der Sippe 50 mit Zweierkonfiguration, bestehend aus den Chromosomen 3 und 4. 3000mal.

in den verschiedenen Linien, 2. die Bildung der Dreierkonfiguration bei *graminifolia*-Pflanzen und 3. die Verstärkung des heterochromatischen Terminalknopfes beim 6. Chromosom in homozygoten Rückmutanten.

## IV. Die Beziehung der karyologischen Befunde zum *graminifolia*-Fall.

Wenn das *graminifolia*-Phänomen nicht von vornherein auf unilokale Genmutationen zurückgeführt wird und alle karyologischen Befunde als sekundäre Effekte erklärt werden, so entsteht das Problem, die karyologischen Besonderheiten nach Möglichkeit unter einen einheitlichen Gesichtspunkt zu bringen und eine Korrelation zu dem *graminifolia*-Phänomen aufzufinden.

Bei der Hypothesenbildung mag zunächst die variable Verklebungstendenz der Chromosomen behandelt werden. In der Feststellung, daß mit zunehmender Stabilität des *graminifolia*-Charakters eine Zunahme der Verklebungstendenz der Chromosomen verbunden ist, scheint ein Widerspruch zu bestehen, da die Annahme naheliegt, daß mit zunehmender Verklebungstendenz die Möglichkeit der Entstehung von Chromosomenaberrationen und somit auch die allgemeine Mutationsrate wächst. Die Nachkommenschaften der verschiedenen *graminifolia*-Linien zeichnen sich aber nicht durch erhöhte und abgestufte allgemeine Mutationsraten aus, sondern lassen Unterschiede nur in ihren Rückmutationsraten erkennen, wobei jedoch außerdem die Abstufung der Häufigkeiten genau entgegengesetzt zur Abstufung des Verklebungsgrades verläuft. Daraus geht hervor,

Abb. 15. Zygotän bei *gram*$^{mut\text{-}b}$. Partnerwechsel zwischen inhomologen Chromosomen. 3000mal.

daß die abgestufte Verklebungstendenz der Chromosomen nicht als unmittelbare Ursache der Mutationsprozesse, sondern allenfalls als pleiotrope Äußerung der unterschiedlichen Stabilität des *Gram*-Gens aufzufassen ist.

Auch die Dreierkonfiguration ließe sich als gewöhnlicher Verklebungseffekt deuten und könnte somit als Folgeerscheinung einer unilokalen Genmutation aufgefaßt werden. Die terminale Vereinigung der Chromosomen wäre dann lediglich auf eine gesteigerte Affinität unspezifischer heterochromatischer Chromosomenorte zurückzuführen. Gegen diese Interpretation sprechen jedoch vor allem die Veränderungen am Ende des kurzen Armes von Chromosom 6, wo in Pflanzen der Sippe 50 nach Ernst kein, bzw. nach unseren Untersuchungen nur ein kleiner Knopf vorhanden ist, während dagegen in homozygoten Rückmutanten der betreffende Chromosomenarm mit einem gut ausgebildeten Knopf endet. Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß im Verlauf der Mutationsschritte von Sippe 50 zu *gram*$^{mut}$ und wieder zurück zum Ausgangstyp zumindest zwischen den Terminalknöpfen der an der Dreierkonfiguration beteiligten Chromosomen gewisse Umbauten stattfinden, die mit der Ausbildung des *graminifolia*-Merkmals in ursächlichem Zusammenhang stehen können.

Auf derartige Umbauten deutet auch der Verlauf der Chromosomen im Zygotän hin, wo kurz vor der Einmündung in den Sammelknopf die noch streckenweise ungepaarten Chromosomen einen Partnerwechsel erkennen lassen (Abb. 11 und 12). Dabei scheinen sich die Umbauten nicht allein auf die Terminalknöpfe zu beschränken, sondern greifen zumindest auch auf die benachbarten euchromatischen Chromosomenabschnitte über, was aus günstig gelegenen Zygotänkernen ersichtlich ist (Abb. 15), obwohl hier die weiteren Einzelheiten des Chromosomenverlaufs noch nicht eindeutig geklärt werden konnten.

Auch andere Erwägungen sprechen dafür, daß die terminale Bindung zwischen den Chromosomen 4 und 6 nicht allein durch eine gesteigerte Affinität des heterochromatischen Materials, sondern vor allem strukturell bedingt ist. Da bereits die reguläre Verklebungstendenz der Chromosomen bei der Sippe 50 zur Bildung einer Zweierkonfiguration aus den Chromosomen 3 und 4 führen kann, müßte die Steigerung der Verklebungstendenz in den *graminifolia*-Linien erst recht die terminale Vereinigung dieser beiden Chromosomen fördern. Das ist aber offensichtlich nicht der Fall, da nach den bisherigen Beobachtungen die Verbindung zwischen den Chromosomen 3 und 4 erst dann zustande kommt, wenn bereits Chromosom 4 und 6 miteinander terminal vereinigt sind. Bei Nichtberücksichtigung der strukturellen Bindungsmöglichkeit hieße das, daß Chromosom 6, welches im Gegensatz zu Chromosom 3 bei der Sippe 50 keine Neigung zum Verkleben mit Chromosom 4 besitzt, in den *graminifolia*-Linien neben der allgemein gesteigerten Verklebungstendenz nun plötzlich eine ganz besondere Förderung der Verklebungsmöglichkeit seines einen Endes erfahren hätte, so daß es jetzt in der Neigung zum Verkleben sogar das 3. Chromosom noch übertrifft und ihm in der Verklebung mit dem 4. Chromosom zuvorkommen kann. Von der alleinigen Annahme einer gesteigerten Affinität des heterochromatischen Materials ausgehend, lassen sich diese Prozesse demnach nur schwer erklären. Dagegen dürfte es weitaus wahrscheinlicher sein, daß die in den *graminifolia*-Pflanzen auftretende enge Terminalbindung zwischen den Chromosomen 4 und 6 durch strukturelle Umbauten bewirkt wird, wobei vor allem eine Translokation von heterochromatischen Knöpfen oder von Teilen derselben und ihren Nachbarabschnitten in Frage kommt.

## V. Die Arbeitshypothese für den *graminifolia*-Fall.

Auf Grund der vorstehenden Überlegungen wurde eine vorläufige Arbeitshypothese entwickelt in der Form eines cytogenetischen Modells, das sowohl den genetischen Verhältnissen als auch den cytologischen Beobachtungen weitgehend Rechnung tragen sollte. Ein solches Modell ließ sich konstruieren unter zwei zunächst noch unbeweisbaren, aber nicht unwahrscheinlichen Voraussetzungen:

1. Der *Gram*-Locus liegt auf einem der 3 Chromosomen der Dreierkonfiguration.

2. Durch Translokationen in den knopftragenden Terminalabschnitten verändert sich die Lage-Beziehung zwischen Heterochromatin und *Gram*-Locus, so daß sich dieser nicht mehr normal, sondern bei geeigneter Chromosomenkombination als *graminifolia* manifestiert.

Unter diesen beiden Voraussetzungen wird bei dem konstruierten Modell ein Kombinationstyp gebildet, der als Repräsentant für alle *graminifolia*-Fälle dienen könnte, indem sich der Unterschied in der Stabilität der *graminifolia*-Linien auf verschieden hohe Re-Translokationsraten zurückführen ließe. Als Re-Translokationsmechanismus kämen Transpositionen in Frage in der Art, wie sie von McClintock (1953) für extragene Einheiten (extragenic units) festgestellt worden sind. Eine andere Möglichkeit besteht darin, daß bei Annahme von ungleichen Duplikationen der Translokationssegmente die Re-Translokation bestimmter Abschnitte oder Loci sich über den Mechanismus der Chiasmen-

bildung in den Translokationssegmenten vollziehen könnte. Erfolgt bei einem solchen Modelltyp kein Austausch im Translokationssegment, so züchtet der Typ rein als *gram*$^{const}$ und mendelt. Findet dagegen ein Austausch im Translokationssegment statt, so treten phänotypisch normale Rückmutanten auf, von denen ein Teil im Gegensatz zur normalen ursprünglichen Ausgangsform ein dupliziertes Chromosomensegment besitzen kann. Diese Hypothese erfährt eine wesentliche Bestärkung durch die Unterschiede in der Rückmutationsrate zwischen den beiden Geschlechtern, da die Wahrscheinlichkeit besteht, daß die Austauschrate im männlichen Geschlecht höher als im weiblichen ist. Die Tragfähigkeit der Arbeitshypothese und die Richtigkeit der Einzelheiten des cytogenetischen Modells werden durch weitere Untersuchungen geprüft.

## VI. Diskussionsbemerkungen.

Mutable Gene sind bei *Antirrhinum* seit langem bekannt und schon mehrfach Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Während es Mutanten gibt, die in ganz frühen ontogenetischen Stadien, und nur in diesen, gehäuft mutieren (z. B. *cupuliformis*), kennen wir andere, die in allen Stadien der somatischen Entwicklung und des sporogenen Gewebes häufig zum dominanten Allel rückmutieren (z. B. *pal*$^{rec}$). Eine dritte Gruppe von mutablen Genen mutiert nur im generativen Gewebe zurück, gibt also nach Selbstung in der folgenden Generation stets eine mehr oder minder große Anzahl phänotypisch normaler bzw. intermediärer Individuen (z. B. *Victrix*, *Hirzina*, *matura*, u. a. m.).

Während bei somatisch rückmutierenden Allelen eine exakte Feststellung der Häufigkeit der Mutationsereignisse meist nicht möglich ist, da der Initialvorgang, der eine einzige somatische Zelle umfaßt, nicht genau lokalisiert werden kann, lassen sich bei nur generativ rückmutierenden Allelen genaue Angaben über die statistische Häufigkeit der Ereignisse machen. Im Falle *graminifolia* erreichen diese Vorgänge eine Frequenz, die bisher unseres Wissens bei keinem anderen Objekt beobachtet worden ist. In der hochmutablen Linie b sind im Durchschnitt 12,33% aller Gonen mutiert. Allein diese Tatsache in Verbindung mit mehr oder minder großen Störungen der männlichen Fertilität lassen eine gründliche cytologische Analyse dringend erforderlich erscheinen.

Während *Antirrhinum* im Laufe der Jahre eine intensive genetische Bearbeitung erfahren hat und zu einem klassischen Objekt der Vererbungswissenschaft geworden ist, blieb das cytologische Interesse daran seit der von Ernst (1938, 1939, 1940) geleisteten Pionierarbeit der Identifizierung der Chromosomen und der von Knapp und Pohlendt (Pohlendt 1942a, b) begonnenen cytogenetischen Analyse in der Hauptsache mehr auf Fragen entwicklungsphysiologischer Art beschränkt. Auch die cytologische Analyse des *graminifolia*-Falles befindet sich noch im Anfangsstadium und gestattet, abgesehen von hypothetischen Erörterungen, keinen eingehenden Vergleich mit anderen, schon besser aufgeklärten Fällen, so daß eine Diskussion sich auf die wesentlichen Grundzüge beschränken muß.

Ebenso wie bei *Drosophila* und *Zea mays* (Übersicht bei Hannah 1951, Lewis 1950, McClintock 1951) scheint auch bei *Antirrhinum* ein Zusammenhang zwischen der Lagewirkung des Heterochromatins und der Labilität von Genen zu bestehen. Ein auffallender Unterschied zwischen den beim Mais untersuchten

mutablen Loci und dem *graminifolia*-Fall bei *Antirrhinum* besteht jedoch hinsichtlich des Mechanismus, der die Verlagerung der betreffenden Chromosomenabschnitte bzw. der einzelnen Loci bewirkt. Während beim Mais der in der Mitose zur Wirkung kommende Bruch-Fusions-Brücken-Zyklus maßgeblich ist, scheinen im *graminifolia*-Fall von *Antirrhinum* für die Chromosomenveränderungen solche Mechanismen entscheidend zu sein, die ausschließlich in der Meiose zur Funktion gelangen. So entsprechen die bisherigen, für *graminifolia* gewonnenen Vorstellungen über die Chromosomenveränderungen beim Rückmutationsprozeß durch Crossingover mehr den Ergebnissen von Laughnan (1949, 1951) und finden eventuell noch eine Parallele im Verhalten des von McClintock untersuchten *Ac*-Locus beim Mais, für den Austauschvorgänge zwischen homologen Chromosomen nachgewiesen sind, der aber andererseits auch durch Transpositionen an andere Stellen im Chromosomensatz verlagert werden kann und durch sein sonstiges Verhalten nicht ohne weiteres mit dem autonomen *Gram*-Locus vergleichbar ist. Trotz dieser Unterschiede sind die bisherigen Ergebnisse und Modellvorstellungen für den *graminifolia*-Fall bei *Antirrhinum* mit den von Goldschmidt (1951) und McClintock entwickelten Ansichten vereinbar, daß Allele keine qualitativen Änderungen eines Gens sind, sondern auf verschiedene quantitative Kompositionen von Untereinheiten und Chromosomenstücken zurückzuführen sind.

## Zusammenfassung.

1. 1936 und 1940 traten *graminifolia*-Mutanten auf, die sich nach Selbstung als nicht konstant erwiesen.

2. Die mutablen *graminifolia*-Mutanten gehören mit der konstanten *graminifolia* zu einer Serie multipler Allele *Gram-gram*$^{mut}$-*gram*$^{const}$.

3. In der Linie a von *gram*$^{mut}$ wurden im Durchschnitt 1,94%, in der Linie b im Durchschnitt 12,33 rückmutierte Gonen gefunden. Somatische Rückmutationen wurden nie beobachtet.

4. Die Rückmutationsrate ist in beiden Geschlechtern nicht die gleiche. Aus reziproken Kreuzungen mit der konstanten *graminifolia* wurde ermittelt, daß im männlichen Geschlecht der mutablen Linie b mit statistischer Sicherung mehr Mutationen registriert werden als im weiblichen Geschlecht.

5. Die Labilität des Locus verläuft nur in Richtung *gram*$^{mut} \rightarrow$ *Gram*, nicht in der Richtung *Gram* $\rightarrow$ *gram*$^{mut}$.

6. Im Vergleich zur Sippe 50 ist bei *graminifolia*-Pflanzen die Verklebungstendenz der Chromosomen in den meiotischen Prophasen erhöht.

7. In Rückmutanten aus den mutablen *graminifolia*-Linien ist die Verklebungstendenz wieder normal, in manchen Fällen sogar geringer als bei der Sippe 50.

8. Zwischen den einzelnen *graminifolia*-Linien besteht eine Abstufung des Verklebungsgrades. Mit steigender Stabilität des *gram*-Allels von *gram*$^{mut\text{-}b}$ über *gram*$^{mut\text{-}a}$ zu gram$^{const}$ nimmt die Verklebungstendenz zu.

9. Zur besseren Identifizierung der Pachytänchromosomen wurden für das 4. und 6. Chromosom neue Merkmale festgestellt.

10. Typisch für alle *graminifolia*-Pflanzen ist im Pachytän ein Verband von 3 einseitig terminal vereinten Chromosomen, der als Dreierkonfiguration bezeichnet wird.

11. Die Dreierkonfiguration entsteht durch Vereinigung der heterochromatischen Terminalknöpfe der Chromosomen 3, 4 und 6.

12. In Rückmutanten ist der Terminalknopf des 6. Chromosoms größer als in Pflanzen der Sippe 50.

13. Die Vereinigung der Terminalknöpfe beruht zwischen den Chromosomen 4 und 6 auf strukturellen Umbauten, wahrscheinlich auf Translokationen, während das 3. Chromosom durch die Affinität des heterochromatischen Materials in den Sammelknopf mit einbezogen wird.

14. Die Translokationen betreffen nicht nur Heterochromatin, sondern auch euchromatische Chromosomenabschnitte.

15. Die vorläufige Arbeitshypothese macht die Voraussetzungen, daß der *Gram*-Locus auf einem der 3 Chromosomen der Dreierkonfiguration liegt und sich infolge Translokation von Heterochromatin in seine Nähe als *gram* manifestiert.

16. Für den Rückmutationsprozeß werden Transpositionen oder Austauschvorgänge zwischen duplizierten Translokationssegmenten angenommen, die die Lagebeziehung zwischen Heterochromatin und *Gram*-Locus verändern.

## Literatur.

Baur, E.: Mutationen von *Antirrhinum majus*. Z. Vererbungslehre **19**, 177—193 (1918). — Untersuchungen über das Wesen, die Entstehung und die Vererbung von Rassenunterschieden bei *Antirrhinum majus*. Bibliotheca Genetica IV. Leipzig: Gebrüder Bornträger 1924. — Döring, H.: Über die Dominanzverhältnisse von Allelen verschiedener Mutabilität. Biol. Zbl. **61**, 65—68 (1941). — Ernst, H.: Meiosis und Crossing over. Zytologische und genetische Untersuchungen an *Antirrhinum majus* L. Z. Bot. **33**, 241—294 (1938). — Zytogenetische Untersuchungen an *Antirrhinum majus* L. Z. Bot. **34**, 81—111 (1939). — Zytogenetische Untersuchungen an haploiden Pflanzen von *Antirrhinum majus* L. 1. Die Meiosis. Z. Bot. **35**, 161—190 (1940). — Goldschmidt, R.: Chromosomes and Genes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 1—11 (1951). — Hannah, A.: Localization and function of heterochromatin in *Drosophila melanogaster*. Adv. Genet. **4**, 87—125 (1951). — Kuckuck, H.: Koppelungsuntersuchungen bei *Antirrhinum majus*. VI. Zur Lokalisation von 6 Genen im *Gram*-Chromosom. Z. Vererbungslehre **69**, 335—344 (1935). — Kuckuck, H., u. R. Schick: Die Erbfaktoren bei *Antirrhinum majus* und ihre Bezeichnung. Z. Vererbungslehre **56**, 51—83 (1930). — Laughnan, J.: The action of allelic forms of the gene *A* in maize. II. The relation of crossing over to mutations of $A^b$. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **35**, 167—178 (1949). — Maize Genetics Cooperative. News Letter **25**, 28—29 (1951). — Lewis, E.: The phenomenon of position effect. Adv. Genet. **3**, 73—115 (1950). — McClintock, B.: Chromosome organization and genic expression. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 13—47 (1951). — Induction of instability at selected loci in maize. Genetics **38**, 579—599 (1953). — Pohlendt, G.: Cytologische Untersuchungen an Mutanten von *Antirrhinum majus* L. I. Deletionen im *uni*-Chromosom. Z. Vererbungslehre **80**, 281—288 (1942a). — Cytologische Untersuchungen an Mutanten von *Antirrhinum majus* L. II. Mosaikpflanzen mit reziproken Translokationen. Chromosoma **2**, 388—406 (1942b). — Resende, F.: Die Nukleolen bei *Antirrhinum majus* L. Ber. dtsch. bot. Ges. **58**, 460—470 (1940). — Schick, R.: Untersuchungen über Koppelung bei *Antirrhinum majus*. VII. Über die Lage von 15 Genen im *graminifolia*-Chromosom. Z. Vererbungslehre **69**, 345—373 (1935).

Prof. Dr. Hans Stubbe und Dr. Friedrich Mechelke, (19b) Gatersleben, Institut für Kulturpflanzenforschung.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre. Bd. 86, S. 249—262 (1954).

Institute of Animal Genetics, Edinburgh.

# A QUANTITATIVE STUDY OF MUSTARD GAS INDUCED CHROMOSOME BREAKS AND RE-ARRANGEMENTS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

By

G. E. Nasrat*, W. D. Kaplan** and C. Auerbach.

With 3 figures in the text.

*(Eingegangen am 14. Juni 1954.)*

Dose-effect curves have been one of the most widely and effectively used tools in the analysis of genetical radiation effects. Several reasons make it unlikely that they will play a similar rôle in chemical mutation work. Here, the effective dose is the amount of mutagenic substance which reaches the chromosomes, and of this the amount supplied from outside cannot give a reliable estimate. Internal conditions, such as permeability, diffusion rates and side reactions with other biological materials, intervene between the introduction of the mutagen into the organism and its arrival at the site of genetical action, and these may be changed considerably by slight variations between experiments, individuals, and cells, such as age, nutritional state, or even concentration or duration of treatment: the very factors whose effect one wishes to study. Even where, as in the experiments by Gibson, Brink and Stahmann (1950) on maize, by Rapoport (1947), Fahmy and Fahmy (1952), and Fahmy and Bird (1953) on *Drosophila*, fairly good linear relationships between externally measured dose and mutagenic effect have been found, the interpretation in terms of the primary mutagenic effect remains doubtful.

A quantitative approach to the study of chemical mutagens which is not open to these objections consists of measuring the genetically effective dose in units of some sufficiently frequent nuclear effect. The weak points of this type of dose measurement have been discussed previously (Auerbach 1949b); they will have to be kept in mind when interpreting results based on it. Although this method can throw but little light on the primary mutagenic action of the tested substances, it may, by providing data on the relative frequencies of different genetical effects under varying experimental conditions, indicate the relationship between the mechanisms producing these effects.

In the present investigation, the frequencies of translocations, large deletions and dominant lethals have been determined after mustard gas exposures which induced from about 5 to about 12% sex-linked lethals. The main emphasis has been laid on the translocation data; for these should show whether after mustard gas, as after X-radiation, large re-arrangements are secondary effects of two primary, independently induced chromosome breaks. Cytological observations by Mehtab (1953) suggested that this might not be the case.

* Present address: Faculty of Agriculture, Fouad I University, Guiza, Egypt.

** Present address: Medical Research Institute, 1800 East Duarte Rd., Duarte, California, U.S.A.

A comparison between large translocations and large deletions at various doses was carried out as a check on observations by Auerbach and Robson (1947), which had indicated a discrimination of the treatment against interchromosomal as compared with intrachromosomal re-arrangements.

The frequency of dominant lethals was used as a measure of single, unjoined breaks, with qualifications to be discussed later.

Samples of $F_1$ larvae were examined cytologically by one of us (Nasrat). These data turned out to be quantitatively insufficient for dose comparisons. Some qualitative results will be reported separately.

## Material and methods.

In all experiments, treatment was given to ♂♂ of a wild-type Oregon strain, derived from the Oregon-K (Or-K) stock which has been used extensively for mutation work in this department and has consistently yielded spontaneous mutation rates of approximately 0.3% sex-linked lethals. Although the presence of undetected translocations in laboratory stocks is very unlikely, it was deemed preferable to build up a translocation-free stock. Accordingly, a substrain of Or-K, Or-T, was built up from 7 couples which by genetical tests had been shown to be free of translocations involving the three major chromosomes ($P$ for carrying a translocation = 0.01 for each pair). Subsequently, the cytological investigation revealed the presence of an inversion in this stock, and it was once more purified. The final strain, Or-N, was established from 3 pairs shown cytologically not to transmit a structural chromosome abnormality. Spontaneous mutation rate for the Or-T strain was found to be 0.36%, similar to that of the parent strain. The Or-N strain was not re-tested for spontaneous mutability. The first experiment (HN I) was done with Or-T, all others with Or-N.

Strømnaes (1949) has shown that speed of larval development influences the sensitivity of the adults to the mutagenic action of X-rays. To guard against possible errors from this source, ♂♂ for treatment and controls were collected from bottles which had been stocked with eggs during one night only; collection of ♂♂ started soon after the first flies had hatched and was not extended over more than two days. Exposure was given on the third day following collection, and on the next day the ♂♂ were mated.

♀♀ were taken from the following stocks: (1) Muller-5, for the scoring of sex-linked lethals; (2) *vg*, for the scoring of dominant lethals; (3) *yvf*=; *dp*; *e*, for the scoring of large deletions of the X-chromosome in $F_1$, and of translocations in the backcross of $F_1$ ♂♂ to stock ♀♀. This method allows scoring of translocations involving the two large autosomes and the X-chromosome.

Mass matings were used in the tests for sex-linked lethals, deletions and translocations. The number of $P_1$ pairs per $\frac{1}{2}$ pint bottle varied with the severity of the treatment from 15 for the lowest to 30 for the highest dose. The bottles were kept at 25° for 3 days. After this, the ♂♂ were discarded, and the ♀♀ were transferred to fresh bottles in order to produce more progeny. In one experiment, a second brood was raised by re-mating the ♂♂ to new virgins on the 4th day and discarding them on the 7th.

Pair matings were used for the determination of dominant lethality. 30 to 35 treated and control ♂♂ were mated each to 1 *vg* ♀ of 3–4 days' age. After

2 days, each couple was transferred to a larger vial into which was inserted an objective slide with a drop of agar medium which had been brushed over with acetic acid or a thin yeast suspension. Eggs laid during one night were counted, or, if necessary, collections were made on two successive nights. After incubation at 25° C for 26 hours, hatchability was determined by counting the unhatched eggs. Batches of eggs from which no larvae at all were obtained were excluded from the calculations, because they may be due to failure of insemination. Hatchability in the treated series expressed as percent of hatchability in the controls was called relative hatchability, and 100% minus relative hatchability was called relative dominant lethality. It is this last value which was used for construction of the dose-effect curve.

For exposure of the ♂♂ a modification of Dr. MOSER's apparatus (see AUERBACH and MOSER 1951) was used. Whereas in MOSER's apparatus air was sucked over liquid mustard gas before entering the exposure chamber, it was now bubbled through liquid mustard gas. In all experiments, exposure was given at the same temperature (16° C) and at the same rate of flow. The variable, dose-determining factor was time of exposure; but, as had been expected, equal exposure times did not always effect equal mutation rates. This is shown clearly in Table 1, in which two groups of two experiments each are compared. In the first group, about 800 ♂♂ were exposed together in a 3×1 inch vial; in the second group, about 1200 ♂♂ were exposed in a larger and somewhat differently proportioned vial.

Table 1. *Sex-linked lethals in two groups of experiments, in which the same two exposure times were used under identical conditions of temperature and rate of flow. In Group II, larger numbers of flies were exposed in a larger vial than in Group I.*

| Exposure time min | Group I | Group II |
|---|---|---|
| 17 | 8.2±1.0 | 4.8±0.5 |
| 25 | 12.4±1.4 | 7.1±0.6 |

It will be seen that within each group there is proportionality between exposure time and mutation rate, but that at both exposure times the flies in Group II show only about half the response of those in Group I. Whatever the cause for this relative insensitivity in Group II—more time required to fill the larger vial with the air-gas mixture, more mutual shielding when larger numbers of narcotized flies sink to the bottom, etc.—these observations confirm strongly the need for scepticism when measuring dose of a chemical mutagen in terms of physico-chemical units.

## Results.

*1. Translocations. Dosage curve.* In five experiments, sex-linked lethals and translocations involving the three major autosomes were scored in the first brood from simultaneously treated ♂♂. The results are presented in Table 2 and Fig. 1.

In Expt. HN II a second brood had been raised from the 4th to the 7th day. It yielded considerably higher numbers of both lethals and translocations than the first brood: 11.2% lethals and 1.75% translocations. Apparently, the germ cells used for the production of this brood had been in a more sensitive stage than those used for the first brood; this is in keeping with experiments in which the sensitivity of germ cell stages to mustard gas was tested (AUERBACH 1953

Table 2. *The frequencies of translocations and sex-linked lethals in the progeny of mustard gas treated ♂♂.*

| Expt. | Lethals | | | Translocations | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $n$ | $l$ | % | $n$ | $t$ | % |
| HN IV | 1726 | 82 | $4.8 \pm 0.54$ | 2655 | 9 | $0.34 \pm 0.11$ |
| HN III | 1845 | 130 | $7.1 \pm 0.59$ | 2497 | 17 | $0.68 \pm 0.16$ |
| HN II | 828 | 68 | $8.2 \pm 0.95$ | 1361 | 10 | $0.73 \pm 0.23$ |
| HN VI | 1235 | 112 | $9.1 \pm 0.80$ | 1402 | 12 | $0.86 \pm 0.25$ |
| HN I | 532 | 66 | $12.4 \pm 1.43$ | 519 | 11 | $2.11 \pm 0.63$ |

$n$ = number of tested spermatozoa; $l$ = number of lethals; $t$ = number of translocations.

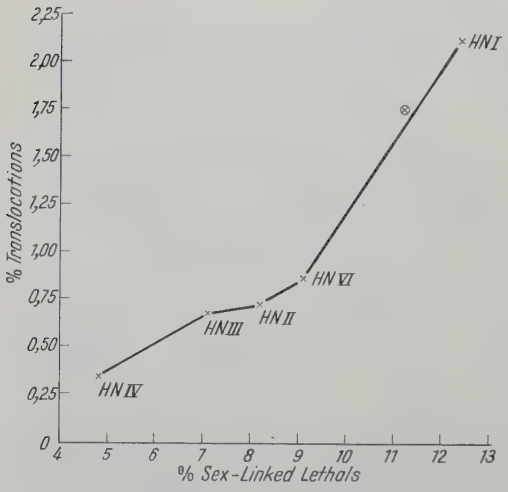



Fig. 1. The frequency of mustard gas induced translocations plotted against the frequency of sex-linked lethals. All points on the curve represent first broods. ⊗ represents the second brood of Expt. HN II.

and unpubl.). These data were not used for calculation of the dose-effect relationship; but the point representing them has been entered in Fig. 1 and is seen to lie very close to the curve formed by the points representing first broods.

It appears from Table 2 and Fig. 1 that the frequency of translocations increases in a fairly regular manner with that of lethals, but that the relation between these two frequencies is of a higher order than linear proportionality. We are indebted to Dr. E. C. R. Reeve of this department for suggesting a method of fitting the observed curve.

Assuming that the curve can be adequatelydescribed by an equation of the form

$$T = c \cdot L^k,$$

where $T$ = proportion of translocations, $L$ = proportion of lethals, and $c$ = constant, substitution of the logarithms of $T$ and $L$ for the actual values should result in a straight line

$$\log T = \log c + k \cdot \log L.$$

The value of $k$ can now be determined by fitting a regression line to the logarithmic data. In view of the variable errors of $T$, a weighted regression line was constructed. The weighting factors for $\log_e T$ were obtained by multiplying each $T$ by the number of spermatozoa. This simple procedure is justified by the following consideration: if $T$ = probability of a translocation with sample size $n$,

$$\text{then } V = \text{variance of } T = T(1 - T)/n.$$

$$\begin{aligned} \text{The variance of } \log_e T = V' &= \text{approx. } V/T^2 \\ &= T(1 - T)/n\,T^2 \\ &= (1 - T)/n\,T, \end{aligned}$$

which for small values of $T$ becomes $1/n\,T$.

$$\text{Weight} = 1/V' = n\,T.$$

The value of $k$ was calculated from the weighted regression line and was found to be

$$k = 1.839 \pm 0.25.$$

In Fig. 2 the regression line has been drawn through the point representing the weighted mean of the distribution. A point representing the second brood of Expt. HN II has also been entered and is seen to lie very close to the regression line.

The standard error of the regression coefficient $k$ is based on only 3 degrees of freedom, so that the 95% confidence limits of $k$ are

$$1.839 \pm 0.25 \times 3.18 = 1.04 \text{ and } 2.64.$$

The data are thus consistent with $k = 2$, whereas the probability of $k = 1$ is slightly less than 5%.

Our results make it unlikely that the frequency of mustard gas induced translocations increases linearly with the genetically effective dose as measured in terms of sex-linked lethals. They are in good agreement with the assumption that translocation frequency increases as the square of the genetically effective dose.

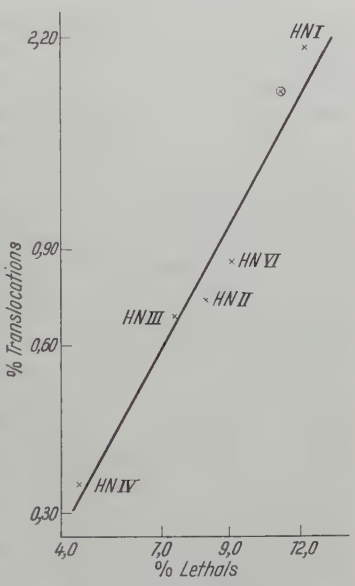



Fig. 2. The frequency of translocations plotted against the frequency of sex-linked lethals on a double logarithmic scale. The regression line has been drawn so as to fit the five points representing first broods. ⊗ represents the second brood of Expt. HN II.

*2. A comparison of translocations and deletions.* Experiments by Auerbach and Robson (1947) had indicated that the shortage of re-arrangements after mustard gas treatment as compared with X-radiation is more pronounced for translocations than for deletions. These findings, however, were open to some doubt, because the experiments had been carried out before the discovery of a sensitive stage to mustard gas during germ cell development (Auerbach 1949a). Treated ♂♂ had been allowed to fertilize ♀♀ for different periods of time in different experiments, and this may have resulted in different mixtures between more and less sensitive germ cells. How much this might have influenced the results is illustrated by the present Expt. HN II, in which the second brood contained considerably more lethals, translocations, and deletions than the first. Moreover, Auerbach and Robson had tested for deletions and translocations in independent experiments, whereas in the present investigation spermatozoa from the same ♂♂ were used for the detection of both effects, so that differences in sensitivity between flies were minimized. It therefore seemed important to check on the earlier findings by comparing them with the frequencies of deletions and translocations in our experiments.

Tests for large deletions of the X-chromosome were combined with all translocation tests. The results, including the second brood of Expt. HN II, are summarized in Table 3.

Table 3. *The frequency of large deletions in the X-chromosome of mustard gas treated ♂♂. With one stated exception, only first broods, produced during three days, were used.*

| Experiment | Dose as measured in % sex-linked lethals | No. $F_1$ ♀♀ examined | Deletions | |
|---|---|---|---|---|
| | | | No. | per $10^4$ |
| HN IV | 4.8 | 8331 | 2 | 0.2 |
| HN III | 7.1 | 2396 | 1 | 0.5 |
| HN II, first brood | 8.2 | 2127 | 3 | 1.4 |
| HN VI | 9.1 | 2257 | 5 | 2.3 |
| HN II, second brood | 11.2 | 1963 | 8 | 4.1 |
| HN I | 12.4 | 706 | 1 | 1.4 |

It will be seen that—with the exception of the small-scale experiment HN I—the percentage of deletions increased with that of sex-linked lethals. For a more elaborate quantitative study, such as has been carried out above for translocations, deletions are not a suitable material. Their frequencies are too low for reliable estimation from samples of manageable size, and their survival is influenced by culture conditions, which cannot be kept strictly constant between experiments. Nevertheless, a rough comparison with the frequencies of X-ray induced deletions can be carried out. For this purpose, the experiments were grouped into three classes according to dose: HNL (low dose), HNM (Medium dose), and HNH (high dose). HNL consists only of Expt. HN IV. HNM combines HN III and the first brood of HN II, with an average lethal rate of 7.5%. HNH combines HN VI, HN I and the second brood of HN II, with a weighted average lethal rate of about 10%. For each dose and sample size the expected number of deletions in an X-ray experiment yielding the same frequency of sex-linked lethals was calculated by applying the 3/2 power dose-effect rule to data by Bishop (1938) and Pontecorvo (1940), which show that deletions of the kind scored by us arise with a frequency of about 1% after 4000 r units of X-radiation. The 3/2 power rule has been derived for *Drosophila* from genetical translocation tests by Muller, Makki and Sidky (1939) and Muller (1940), and from cytological studies by Bauer, Demerec and Kaufmann (1938). Its validity for large deletions in *Drosophila* has never been explicitly established. However, there is little reason to doubt it and, in fact, an X-ray experiment by Auerbach and Robson (1947) was in good agreement with the expectation based on it. In a similar way the numbers of translocations obtained in the three groups of experiments were compared with those to be expected in X-ray experiments of the same sample size and yielding the same proportion of sex-linked lethals.

Table 4. *A comparison between the frequencies of mustard gas induced large deletions and those expected in X-ray experiments yielding the same frequencies of sex-linked lethals.*

| Experiment | % sex-linked lethals | No. tested spermatozoa | No. deletions | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | expected | observed | ratio |
| HNL | 5 | 8331 | 21 | 2 | 10:1 |
| HNM | 7.5 | 4523 | 20 | 4 | 5:1 |
| HNH | 10 | 4926 | 31 | 14 | 2:1 |
| H 92 | 7 | 5052 | 18 | 9 | 2:1 |
| HX 1 | 9 | 6635 | 41 | 16 | 3:1 |
| | | 29467 | 131 | 45 | 3:1 |

Note: the lower part of the table contains earlier data by Auerbach and Robson (1947).

Table 5. *A comparison between the frequencies of mustard gas induced translocations and those expected in X-ray experiments yielding the same frequencies of sex-linked lethals.*

| Experiment | % sex-linked lethals | No. tested spermatozoa | No. translocations | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | expected | observed | ratio |
| HNL | 5 | 2655 | 54 | 5 | 11:1 |
| HNM | 7 | 3858 | 123 | 12 | 10:1 |
| HNH | 10 | 3060 | 172 | 26 | 7:1 |
| H 32 | 8.6 | 816 | 56 | 7 | 8:1 |
| H 89 | 14.5 | 981 | 98 | 21 | 5:1 |
| | | 11370 | 503 | 71 | 7:1 |

Note: the lower part of the table contains earlier data by AUERBACH and ROBSON (1947).

The expected numbers were calculated by applying the 3/2 power rule to the data by MULLER and his collaborators, which show that 1000 r units produce about 1.1% translocations between the large autosomes.

The results of these comparisons are shown in Tables 4 and 5, which also include the earlier data by AUERBACH and ROBSON. In view of the good agreement between the new and old data, both have been used for calculating the totals.

It is clear from Tables 4 and 5 that the frequencies of both deletions and translocations are reduced in mustard gas experiments as compared with X-ray experiments. This reduction is more pronounced at low than at high doses; this is to be expected if—as our data indicate—the frequency of mustard gas rearrangements increases as the square of the dose, whilst that of X-ray induced ones increases more nearly as the 3/2 power of the dose. At all dose levels, except the lowest, where deletion frequency is too small for accurate estimation, the discrepancy between expected and observed frequencies is greater for translocations than for deletions; in the pooled data the shortage of translocations is about twice that of deletions.

*3. Dominant lethals.* Tests for hatchability of the $F_1$ were carried out on aliquots of treated ♂♂ from all translocation-deletion tests. In a number of additional experiments, only recessive sex-linked lethals and relative dominant lethality (see under Methods) were determined. Table 6 brings the values of

Table 6. *The frequencies of recessive sex-linked and dominant lethals in the progeny of mustard gas treated ♂♂.*

| Experiment | Recessive lethals | | Dominant lethals | |
|---|---|---|---|---|
| | Number tested X-chromosomes | % lethals | Number eggs laid | % relative lethality |
| K 4 | 736 | $4.1 \pm 0.7$ | 1032 | $14.0 \pm 1.1$ |
| HN IV | 1726 | $4.8 \pm 0.5$ | 1041 | $20.6 \pm 1.3$ |
| K 3 | 1028 | $6.9 \pm 0.8$ | 694 | $50.2 \pm 1.9$ |
| HN III | 1845 | $7.1 \pm 0.6$ | 1205 | $35.8 \pm 1.4$ |
| H 124 | 456 | $7.2 \pm 1.2$ | 940 | $50.1 \pm 1.6$ |
| K 5 | 481 | $8.1 \pm 1.2$ | 1122 | $64.1 \pm 1.4$ |
| HN II | 828 | $8.2 \pm 1.0$ | 1185 | $62.6 \pm 1.4$ |
| HN VI | 1235 | $9.1 \pm 0.8$ | 1295 | $74.2 \pm 1.2$ |
| K 2 | 479 | $10.7 \pm 1.4$ | 507 | $79.3 \pm 1.8$ |
| HN I | 532 | $12.4 \pm 1.4$ | 1438 | $73.3 \pm 1.2$ |

Note: the standard error of the relative dominant lethality was calculated as $\sqrt{p(1-p)/n}$, where $p$=percent relative dominant lethality and $n$=number of eggs laid.

relative dominant lethality at different levels of the effective dose as measured in units of sex-linked lethals.

In Fig. 3, the data are shown graphically. No attempt was made to find a mathematical expression for the distribution of points, but its general shape is indicated by the solid curve, which was roughly fitted by hand. For comparison, Lüning's (1952a) data on dominant lethality in the first brood of young X-rayed ♂♂ have been recalculated into relative dominant lethality and entered in Fig. 3. The X-ray doses were translated into units of recessive sex-linked lethals, setting 3% lethals equal to 1000 r.

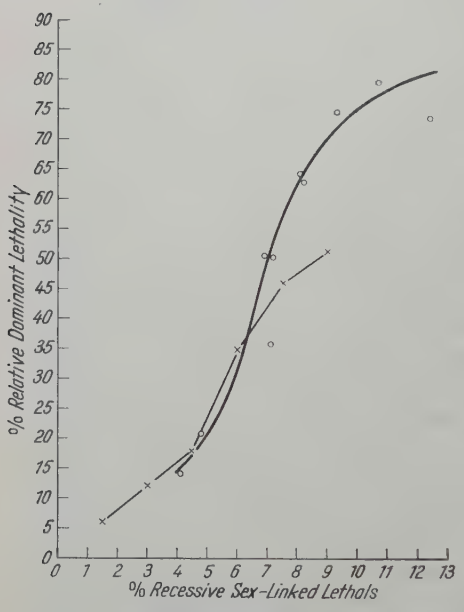



Fig. 3. Relative dominant lethality plotted against the frequency of sex-linked lethals in experiments with mustard gas (present data) and X-rays (data by Lüning).

The curve for the X-ray data shows the expected shape. Up to about 1500 r, when dominant lethals are due mainly to single breaks, there is a linear relationship between relative dominant lethality and dose. Subsequently, when inviable two-break re-arrangements gain in importance as sources of inviability, the curve bends upwards: a dose increase from 1500 r to 2000 r is accompanied by a doubling of relative dominant lethality. Finally, as coincidences of two or more dominant lethals in the same zygote become more frequent, saturation intervenes and the curve flattens out.

In the mustard gas experiments, the two lowest doses produced 4.1 and 4.8% sex-linked lethals, accompanied by 14% and 20.6% relative dominant lethality. Both these points lie very close to the X-ray curve, so that at these low doses mustard gas appears to be as efficient as X-rays in the production of dominant lethals. In the medium dose range, from 6 to 7% lethals, the mustard gas points are scattered. Two out of three lie well above the X-ray curve, and at 8% lethals the mustard gas curve has risen to a decidedly higher level than the X-ray curve. At the highest doses, the mustard gas curve, like the X-ray curve, flattens out.

## Discussion.

The results presented here deal with the dose-dependance of various genetical effects of mustard gas. Sex-linked lethals have been used as the basic effect, against which the others were plotted. Since large re-arrangements are rare among mustard gas induced lethals (Slizynska and Slizynski 1947), no great error is committed if recessive lethals are considered as consisting mainly of point mutations, including minute deficiencies. The frequencies of translocations, large deletions and dominant lethals were thus plotted, dose for dose, against that of point mutations in the wider sense. The fact that this method gave consistent results even though—as illustrated in Table 1—the same lethal rate can be obtained by widely different amounts of externally administered mustard

gas, is the best justification for the use of recessive lethals as estimates of the genetically effective dose.

Applied to translocations, this method resulted in a curve which differs significantly from a linear one, but which can be fitted satisfactorily by a quadratic equation. The simplest interpretation of this finding is that after mustard gas treatment of germ cells a translocation is produced by the interaction, within one cell, of two rare, mutually independent events, each of which follows the same dose-effect rule as point mutations. Comparison with radiation mutagenesis strongly suggests that these primary events are single breaks. Single breaks precede the formation of radiation induced re-arrangements, and their frequency, like that of point mutations, is directly proportional to dose. It is true that after X-radiation the frequency of re-arrangements increases not—as it seems to do after mustard gas treatment—as the square of the dose, but at a somewhat lower rate. This difference, however, is only to be expected. The deviations of the X-ray curve from a quadratic one are secondary features, due to saturation and the formation of inviable multiple-break re-arrangements. At low doses, the dose-effect curve for X-ray induced re-arrangements becomes more nearly quadratic (Muller 1940). The efficiency of mustard gas in inducing structural changes is so low compared with that of X-rays that, measured in terms of re-arrangements instead of lethals, our doses are comparable with low X-ray doses, at which the square dose-effect rule is more nearly fulfilled.

It is always risky to interpret dose-effect curves while the action mechanism of the causative agent is still unknown. It therefore remains a possibility that some concatenation of chemical processes in the cell may result in just the type of relation which we observed for the frequencies of translocations and sex-linked lethals. A better insight into the chemistry of mutagenesis might then suggest a different interpretation of the dose-effect curve presented here. Until such time, however, the most reasonable interpretation seems that mustard gas induced re-arrangements, like those induced by X-rays, originate by a "breakage-first" mechanism (Stadler 1932). Recently, the alternative, so-called "contact" hypothesis, which for X-rays was first discussed by Painter and Muller (1929), subsequently elaborated by Serebrowski (1929) and finally abandoned in face of experimental evidence (in particular by Bauer, Demerec and Kaufmann 1938; Bauer 1939; Muller, Makki and Sidky 1939; Muller 1940), has been taken up again by Revell (1952, 1953) for the interpretation of cytological observations on *Vicia* chromosomes which had been treated with di (2:3-epoxi-propyl) ether. For mustard gas this hypothesis must be rejected on the ground of the present findings; for our data disagree with the straight-line relationship between translocations and lethals which would be expected on the contact hypothesis. Moreover, cytological observations on *Drosophila* by Mehtab (1953), Nasrat (unpubl.) and Slizynska (unpubl.) show that, at least in some cases of treatment with mustard gas or formaldehyde, breakage must have preceded re-arrangement. Triazine, too, appears to produce re-arrangements in *Drosophila* by a breakage-first mechanism, as indicated by the observation (Fahmy and Fahmy 1952, Fahmy and Bird 1953) that the frequency of those triazin-induced lethals which are associated with major re-arrangements increases with dose at a higher rate than proportionality. For urethane, Linnert (1951) provided cytological evidence that structural changes in *Zea Mays* are produced by

breakage and reunion. Finally, Oehlkers and his collaborators (Oehlkers 1953) tested a number of chemical mutagens for their effect on chiasma frequency. The correlation coefficient between chiasma frequency and frequency of structural changes in 186 experiments in *Oenothera* was less than 0, indicating that the two effects are produced in different ways. There is thus good evidence that at least a number of chemical mutagens produce re-arrangements by a breakage-first mechanism such as has been shown to give rise to X-ray induced re-arrangements (Muller 1954). The occasional origin of a structural change from some kind of contact mechanism is of course possible.

It is of some interest that a second brood, which in Expt. HN II was raised from immature treated germ cells, gave a result which fitted closely into the dose-effect curve constructed from first-brood results. If, as Lüning (1952b) has suggested for X-rays, the excess mutation rate in younger sensitive germ cells were made up exclusively from intergenic changes, such a result would not be expected. The proportion of re-arrangements among mustard-gas induced lethals in the first brood is so low that it would have to be increased very substantially in order to produce a marked increase in the overall frequency of lethals. In Expt. HN II overall lethal frequency increased from about 8% in the first brood to about 11% in the second. If this had been due entirely to intergenic changes, the frequency of large re-arrangements in the second brood would need to be 5–6 times that in the first. In reality, translocation frequency in the second brood was 2.5 times as high as in the first, a significant difference from the expected value. If further mustard gas experiments with successive broods should give similar results, it would have to be concluded that mustard gas induces an increased number of both intragenic and intergenic changes in sensitive germ cells. For X-rays, experiments by this method have been inconclusive (Auerbach unpubl.); for here the proportion of intergenic changes among the first-brood lethals is already so high that unmanageably large numbers of germ cells are required for a decisive result.

An assumption which is implicit in the interpretation of our translocation tests is the following: Whatever the law connecting the frequency of recessive lethals with the administered amount of mustard gas, the same law of increase must apply to single breaks. With other words, we have assumed that single breaks increase in frequency at the same rate as sex-linked lethals. Unfortunately, our data do not allow this point to be tested. Dominant lethals are often used for estimates of single break frequencies; but this is admissible only for low doses, et which the majority of dominant lethals are, in fact, due to single breaks (Pontecorvo and Muller 1941, Pontecorvo 1942, Fano and Demerec 1941). At higher doses, such as have been predominantly used in our investigation, two-break events make an ever increasing contribution to dominant lethality, as is well illustrated by Lüning's (1952) data (see Fig. 3). Quite apart from this, the frequency of dominant lethals is usually not scored directly, but derived from data on hatchability, and hatchability is sensitive to all kinds of non-genetical influences which cannot in their effect be distinguished from genetical ones. Better methods for the scoring of single breaks in *Drosophila* are available, and one of these is now being used in mustard gas experiments carried out by Mr. Oster in this department.

At our lowest doses—4.1 and 4.8% sex-linked lethals—the ratio of dominant to recessive lethality was sensibly the same as in X-ray experiments by Fano and Demerec (1941) and Lüning (1952). Since these doses are still within the range in which dominant lethals are due mainly to single breaks, it may be concluded that mustard gas produces the same number of breaks in proportion to sex-linked lethals as X-rays. For nitrogen mustard, Wallace (1951) arrived at the same conclusion. This does not necessarily imply that mustard gas is as efficient as X-rays in the production of primary breaks. Two conceivable alternatives are: first, that mustard gas produces fewer breaks than X-rays, but that these breaks have a tendency to remain open instead of restituting; second, that mustard gas produces more primary breaks than X-rays, but that these breaks have a higher tendency to restitute. As will be seen below, there is a suggestion that the first alternative may be correct. In any case, it seems that mustard gas produces as many *effective* breaks as equivalent doses of X-rays.

Yet these breaks form much fewer re-arrangements than if they had been produced by X-rays. Some secondary factor must impede the formation of new reunions. One cause which comes to mind is the delayed action of mustard gas. This will hardly reduce the frequency of dominant lethals; for sister reunion, followed by a breakage-fusion cycle, will presumably result in death of the zygote even if it takes place as late as the second or third cleavage division. If, however, of two latent breaks in the same zygote one opens without the other, a potential re-arrangement will have been lost by restitution or as a dominant lethal. After mustard gas treatment, 50% or more of small deficiencies appear first as mosaics (Auerbach 1946); their occurrence must thus have been delayed beyond the first cleavage division. There seems no reason to assume a shorter delay for the opening of latent breaks. This means that only about once in four times two breaks in the same cell will both open up before the first cleavage division. Although delay of this order would be adequate to account for the observed shortage of large deletions, it can hardly explain the much more marked shortage of translocations. Moreover, there are indications (Nasrat unpubl., Slizynska unpubl.) that chemically induced breaks have a tendency to open simultaneously in the same cell cycle, and this would seem to reduce the risk of losing re-arrangements through delayed effect. However, this reduction will not be large; for if the simultaneous opening of breaks and the formation of a viable re-arrangement occurs during one of the later cleavage divisions, the result will be a mosaic fly which may remain undetected by the genetical screening tests for re-arrangements.

A further possible cause for the shortage of mustard gas induced re-arrangements is suggested by a comparison of the dominant lethal curves after X-radiation and mustard gas exposure. At about 1500 r, the X-ray curve bends upwards, presumably because inviable two-break re-arrangements become important as a source of zygotic lethality. Mustard gas produces only few re-arrangements; yet the mustard gas curve shows an upward bend at about the same dose as the X-ray curve. Moreover, at still higher doses the mustard gas curve runs consistently and considerably above the X-ray curve. This would be intelligible on the assumption that mustard gas breaks which fail to take part in a re-arrangement tend to remain open rather than restitute; for then

most cells with a "lost" re-arrangement would contain two open breaks. For two reasons zygotes with two open breaks have a higher chance to develop a dominant lethal than zygotes in which these breaks have formed a re-arrangement: first, because most of the open breaks, but only about half of the re-arrangements are lethal, and second, because the probability of leading to zygotic death is almost twice as high for two open breaks as for one. If this is the correct interpretation of the dominant lethal curve, it implies that mustard gas, at least at moderate and high doses, produces breaks with a low capacity for taking part in any kind of reunion either in the old or in some new order, possibly because of chemical damage to the broken ends. A similar property has been reported for breaks produced by α-rays (Lea 1946), although its interpretation is still under debate (Muller 1954). If a weakened capacity for reunion should be characteristic also of breaks which have been produced by low doses of mustard gas, the apparent equality of X-rays and mustard gas in the production of single breaks may be spurious: mustard gas may, in fact, produce fewer breaks than X-rays, but more of them may remain open. However, it is well to keep in mind that this is only one of many possible interpretations of the dominant lethal curve. As has been stressed before, non-genetical influences, including those acting on the centromere and sperm motility, may impair hatchability, and these may well become predominant at higher doses of a strongly reactive chemical such as mustard gas.

The present data confirm the previous finding (Auerbach and Robson 1947) that mustard gas produces a disproportionately high number of large deletions as compared with translocations. It has been suggested (Auerbach 1949c) that this may be due to differences between chromosomes, which favour the simultaneous opening up of two latent breaks in the same chromosome. Observations on the opening of two latent breaks during the same cell cycle after chemical treatment (Nasrat unpubl., Slizynska unpubl.) support this hypothesis; for if conditions which affect the nucleus as a whole can result in the opening of several breaks, it seems possible that conditions of e.g. stress or torsion, which affect one chromosome as a whole, may result in the opening of all the latent breaks in this chromosome. Other explanations are, however, possible. Thus, the proximity influence of reunion, established for X-rays (Kaufmann 1941), might be even stronger in mustard gas treated cells. Alternatively, mustard gas may tend to produce breaks in the same chromosome rather than in different ones. This latter hypothesis cannot easily be tested in *Drosophila*, in which only re-arrangements can be observed. Ford (1949), who treated *Vicia* chromosomes with nitrogen mustard, does not seem to have found a tendency for several breaks to occur in the same chromosome.

## Summary.

Quantitative studies were carried out on the production by mustard gas of translocations, deletions and dominant lethals in *Drosophila melanogaster*. The genetically effective dose was measured by the frequency of sex-linked lethals.

Translocation frequency increased with dose at a power higher than 1. The exponent was calculated as 1.839 with the 95% confidence limits of 1.04 and 2.64. The probability of a linear dependence of the frequency of translocations on dose was thus slightly less than 5%, whereas the data are well fitted by the assumption that translocation frequency increases as the square of the dose.

At our present state of knowledge concerning chemical mutagenesis the simplest interpretation of this finding is that mustard gas re-arrangements, like those produced by X-rays, arise through the reunion of two independently produced breaks. Other evidence for a breakage-reunion mechanism of chemically produced chromosome re-arrangements is briefly reviewed.

At all doses, the frequencies of translocations and large deletions fell short of the numbers expected in X-ray experiments yielding the same frequencies of sex-linked lethals. For translocations this shortage was about twice as marked as for deletions; possible reasons for this are discussed.

Doses of mustard gas producing between 4 and 5% sex-linked lethals equalled X-rays in the production of dominant lethals. At higher doses, the dose-effect curve for mustard-gas induced dominant lethals lay considerably above that for X-ray induced dominant lethals. This is taken to mean that mustard gas equals X-rays in the ability to produce effective (i.e. non-restituted) single breaks, and that the breaks have a tendency to remain open rather than rejoin in the old or a new arrangement. The shortage of re-arrangements after mustard gas is attributed to (1) delayed opening of breaks and, possibly, (2) low ability of the breaks to enter reunions.

**Zusammenfassung.**

Die vorliegende Arbeit ist eine quantitative Untersuchung über die Erzeugung von Translokationen, Deletionen und dominanten Letalfaktoren durch Senfgas bei *Drosophila melanogaster*.

Die Häufigkeit der Translokationen stieg mit der als Prozentsatz geschlechtsgebundener Letalfaktoren ausgedrückten Dosis an, und zwar schneller als linear. Der Exponent des Anstieges war 1,839, mit dem 95%igen Konfidenzbereich von 1,04—2,64. Die Wahrscheinlichkeit, daß Translokationshäufigkeit der Dosis direkt proportional ist, ist daher etwas kleiner als 5%, während die Annahme, daß die Translokationshäufigkeit wie das Quadrat der Dosis wächst, mit den Ergebnissen gut in Einklang steht. Bei dem gegenwärtigen Wissensstande wird dieser Befund am einfachsten so ausgelegt, daß nach Behandlung mit Senfgas wie nach Röntgenbestrahlung Chromosomenumlagerungen durch Vereinigung von zwei unabhängig induzierten Bruchstellen zustande kommen. Weitere Belege für einen derartigen Mechanismus als Grundlage chemisch induzierter Chromosomenumlagerungen werden kurz angeführt.

Für alle Dosen fand sich ein Mangel an Translokationen und Deletionen, verglichen mit den Häufigkeiten, die nach äquivalenten Röntgendosen zu erwarten sind. Für Translokationen war dieser Mangel etwa doppelt so ausgeprägt wie für Deletionen. Mögliche Ursachen für diesen Unterschied werden diskutiert.

Senfgasdosen, welche zwischen 4 und 5% geschlechtsgebundene Letalfaktoren erzeugten, riefen etwa ebensoviel dominante Letalfaktoren hervor wie entsprechende Röntgendosen. Für höhere Dosen lag die Häufigkeitskurve der dominanten Letalfaktoren erheblich höher nach Senfgasbehandlung als nach Bestrahlung. Das wird so ausgedeutet, daß Senfgas zwar die gleiche Anzahl von Chromosomenbrüchen erzeugt, daß diese aber die Neigung haben, offen zu bleiben, anstatt sich in der ursprünglichen oder einer neuen Weise zu vereinigen. Die Knappheit von Chromosomenumlagerungen nach Senfgasbehandlung wird zurückgeführt auf 1. verzögerte Öffnung latenter Brüche und 2. möglicherweise verringerte Fähigkeit der Bruchflächen, miteinander zu verschmelzen.

## Literature cited.

Auerbach, C.: Chemically induced mosaicism in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B **62**, 211 (1946). — Chemical induction of mutations. Proc. VIII. Internat. Congr. of Genetics, p. 128, 1949a. — Chemical mutagenesis. Biol. Rev. **24**, 355 (1949b). — Nuclear effects of chemical substances. Proc. 6. Internat. Congr. Cytol. 1947, p. 93. 1949c. — Sensitivity of *Drosophila* germ cells to mutagens. Heredity (Lond.) Suppl. **6**, 247 (1953). — Auerbach, C., and H. Moser: The effect of oxygen concentration on the mutagenic action of mustard gas. Experientia (Basel) **7**, 341 (1951). — Auerbach, C., and J. M. Robson: The production of mutations by chemical substances. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B **62**, 271 (1947). – Bauer, H.: Röntgenauslösung von Chromosomenmutationen bei *Drosophila melanogaster*. I. Chromosoma **1**, 343 (1939). — Bauer, H., M. Demerec and B. P. Kaufmann: X-ray induced chromosomal alterations in *Drosophila melanogaster*. Genetics **23**, 610 (1938). — Bishop, M.: X-chromosome duplications in *Drosophila melanogaster*. Genetics **23**, 140 (1938). — Fahmy, M. J., and O. G. Fahmy: Chemical mutagenesis in *Drosophila* and its cytogenetic analysis. Brit. Emp. Cancer Camp., Annual Report 1952, p. 16. 1952. — Fahmy, O. G., and M. J. Bird: Chromosome breaks among recessive lethals induced by chemical mutagens in *Drosophila melanogaster*. Heredity (Lond.) Suppl. **6**, 149 (1953). — Fano, U., and M. Demerec: Measurements of the frequency of dominant lethals induced in sperm of *Drosophila* melanogaster by X-rays. Genetics **26**, 151 (1941). — Ford, C. E.: Chromosome breakage in nitrogen mustard treated *Vicia Faba* root tip cells. Proc. VIII. Internat. Congr. of Genetics, p. 570. 1949. — Gibson, P. B., R. A. Brink and N. A. Stahmann: The mutagenic action of mustard gas on *Zea Mays*. J. Hered. **41**, 232 (1950). — Kaufmann, B. P.: Induced chromosomal breaks in *Drosophila*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **9**, 82 (1941). — Lea, D. E.: Actions of radiations on living cells, p. 1—402. Cambridge: University Press 1946. — Linnert, G.: Die Einwirkung von Chemikalien auf die Meiosis. Z. Vererbungslehre **83**, 422 (1951). — Lüning, K.G.: X-ray induced dominant lethals in different stages of spermatogenesis in *Drosophila*. Hereditas (Lund) **38**, 91 (1952a). — Studies on the origin of apparent gene mutations in *Drosophila melanogaster*. Acta Zool. internat. Tidskrift Zool. **33**, 193 (1952b). — Mehtab, M.: Chromosomal re-arrangements in the progeny of *Drosophila* males treated with mustard gas. Nature (Lond.) **171**, 262 (1953). — Muller, H. J.: An analysis of the process of structural changes in chromosomes of *Drosophila*. J. Genet. **40**, 1 (1940). — The manner of production of mutations by radiation. Radiation Biology, Ed. by A. Hollaender, Vol. 1, Chap. 8. 1954. — Muller, H. J., A. T. Makki and A. R. Sidky: Gene re-arrangements in relation to radiation dosage. J. Genet. **37** (Proc. Genet. Soc.) (1939). — Oehlkers, F.: Chromosome breaks influenced by chemicals. Heredity (Lond.) Suppl. **6**, 95 (1953). — Painter, T. S., and H. J. Muller: Parallel cytology and genetics of induced translocations and deletions in *Drosophila*. J. Hered **20**, 287 (1929). — Pontecorvo, G.: Researches on the mechanism of induced chromosome re-arrangements in *Drosophila melanogaster*. Ph. D. Thesis, University of Edinburgh 1940. — The problem of dominant lethals. J. Genet **43**, 295 (1942). — Pontecorvo, G., and H. J. Muller: The lethality of dicentric chromosomes in *Drosophila*. Genetics **26**, 165 (1941). — Rapoport, J. A.: Chemical reaction with the proteins of the amino groups in the structure of the gene. (Russian.) J. Gen. Biol. (Moscow) **8**, 359 (1947). — Revell, S. H.: A new interpretation of the chemical induction of chromosomal aberrations. Brit. Emp. Cancer Camp., Annual Report 1952, p. 19. 1952. — Chromosome breakage by X-rays and radiomimetic substances in *Vicia*. Heredity (Lond.) Suppl. **6**, 107 (1953). — Serebrowsky, A. S.: A general scheme for the origin of mutations. Amer. Naturalist **63**, 374 (1929). — Slizynska, H., and B. M. Slizynski: Genetical and cytological studies of lethals induced by chemical treatment in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh, Sect. B **62**, 234 (1947). — Stadler, L. J.: On the genetic nature of induced mutations in plants. Proc. 6. Internat. Congr. Genet. **1**, 274 (1932). — Strømnaes, Ø.: The production of dominant lethals with X-rays in aged *Drosophila melanogaster* sperm. Genetics **34**, 462 (1949). — Wallace, B.: Dominant lethals and sex-linked lethals induced by nitrogen mustard. Genetics **36**, 364 (1951).

Dr. Charlotte Auerbach, Institute of Animal Genetics,
West Mains Road, Edinburgh 9, Scotland.

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 86, S. 263—268 (1954).

Institute of Animal Genetics, Edinburgh.

# LINKAGE IN THE MOUSE: THE SEX-LINKED GENES AND "ROUGH".

By

D. S. Falconer*.

*(Eingegangen am 23. Juni 1954.)*

## I. Sex-Linked genes.

Four totally sex-linked genes with morphological effects in the mouse have now been described: *Bent-tail, Bn* (Garber 1952a, 1952b); *Tabby, Ta* (Falconer 1952, 1953); *Brindled, Br*, and *Mottled, Mo*, both described first by Fraser, Sobey and Spicer (1953). Since both *Br* and *Mo* are lethal in males their sex-linkage could not be proved until the close linkage of both with *Ta* was demonstrated (Falconer 1953).

The present paper gives the results of linkage tests with these four genes. *Br* and *Mo* were previously found to lie at about the same distance from *Ta*, but whether on the same or opposite sides was not determined. They are now shown to lie on the same side of *Ta* and, in view also of their phenotypic similarity, *Br* and *Mo* are very probably alleles. Separate symbols will, however, be retained because a direct test of allelism cannot be made since doubly heterozygous females are unobtainable.

*Single-factor segregations.* Interpretation of the tests is made difficult by viability and penetrance complications, which disturb the single-factor segregations.

*Bent-tail:* There are deficiencies of heterozygous females and of *Bn* males. The deficiency in females is due to normal overlapping, as found also by Garber (1952a); penetrance in the present material is about 86%. The deficiency in males is probably due to prenatal mortality; viability in the present material is about 54%.

*Tabby:* There is a deficiency of *Ta* males, probably due to reduced viability. The apparent viability is 70%.

*Brindled:* There is good Mendelian segregation.

*Mottled:* There is a deficiency of *Mo*/+ females and a complete absence of *Mo* males, as noted also by Fraser, Sobey and Spicer (1953). Viability of *Mo*/+ females in the present material is about 72%.

*Order of genes and recombination frequencies.* Only backcross matings were used, so the estimates of recombination are unaffected by reduced viability, provided there are no viability interactions. There is, however, evidence of viability interaction in *Bn Ta* and *Bn Br* phenotypes in males, but these sources of error are at least partially overcome by balanced coupling and repulsion phases. The estimates of recombination would be affected by the incomplete penetrance of *Bn*, so normal-tailed females have been excluded from the estimation of the recombinations of *Bn*. Two-point tests were first made between *Bent-tail* and the other three genes, and the data are given in table 1. The recombination

* Agricultural Research Council, Scientific Staff.

frequencies did not establish the order of the genes so three-point tests had to be made. The data from these are given in table 2.

Four types of mating were used, two involving *Bn*, *Ta* and *Br* and two involving *Bn*, *Ta* and *Mo*. *Ta* was always in repulsion with *Br* or *Mo*, but both phases were obtained for *Bn*. The classes of progeny are arranged in pairs, according to crossover type. The rarest type will be the double crossover, by means of which the central of the three loci is exchanged. Excluding phenotypically non-*Bent* females that were not tested, the numbers of crossovers in the matings involving *Br* are 8 of *Bn*, 1 of *Ta* and 5 of *Br*; and in the matings involving *Mo* there are 5 of *Bn*, 0 of *Ta* and 2 of *Mo*. It is therefore clear that *Ta* must lie between *Bn* and *Br* and between *Bn* and *Mo*.

Table 1. *Phenotypes of progeny from doubly heterozygous females mated to wild-type males.*

| Genotype of female parent | Sex | Progeny phenotype | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | *Bn Ta* | *Bn* + | + *Ta* | + + |
| *Bn Ta* / + + | ♀♀ | 49 | 9 | 9 | 60 |
| | ♂♂ | 31 | 6 | 6 | 79 |
| *Bn* + / + *Ta* | ♀♀ | 5 | 37 | 47 | 16 |
| | ♂♂ | 4 | 34 | 48 | 7 |
| | | *Bn Br* | *Bn* + | + *Br* | + + |
| *Bn Br* / + + | ♀♀ | 14 | 1 | 8 | 12 |
| | ♂♂ | 9 | 0 | 1 | 17 |
| *Bn* + / + *Br* | ♀♀ | 5 | 18 | 34 | 20 |
| | ♂♂ | 3 | 29 | 32 | 5 |
| | | *Bn Mo* | *Bn* + | + *Mo* | + + |
| *Bn Mo* / + + | ♀♀ | 6 | 2 | 0 | 8 |
| | ♂♂ | 0 | 1 | 0 | 9 |
| *Bn* + / + *Mo* | ♀♀ | 4 | 34 | 57 | 49 |
| | ♂♂ | 0 | 53 | 0 | 18 |

Estimates of the recombination frequencies were obtained by pooling the data from the two-point and three-point tests, since the different types of mating were not significantly heterogeneous. Between *Bent-tail* and *Tabby* there were altogether 46 recognisable recombinants out of 430, giving a recombination frequency of $10.7 \pm 1.5\%$. Between *Bent-tail* and *Brindled* there were 27 out of 249, giving $10.8 \pm 2.0\%$. Recombination between *Bent-tail* and *Mottled* cannot be reliably estimated on account of the serious disturbance of the single-factor segregations and the imperfect balance between the phases. The order of the genes and the approximate frequencies of recombination between them are therefore:

$$Bn - 11\% - Ta - 4\% - \left\{ \begin{matrix} Br \\ Mo \end{matrix} \right\}$$

## II. Rough.

The recessive gene *rough*, *ro*, which affects the structure of the hairs (Falconer and Snell 1952) was tested against the five multiple linkage-testing stocks described by Carter and Falconer (1951). (These tests were made by members of the Honours and Diploma Class in the Edinburgh University Department of Animal Genetics in 1951—1952). Linkage was found with *non-agouti* (*a*) and with *Danforth's short tail* (*Sd*), both in Linkage Group V. The recombination frequencies were *ro* — *a*, $16.4 \pm 2.6\%$; *ro* — *Sd*, $37.5 \pm 3.8\%$. Recombination between *a* and *Sd* is about 45% (Borger 1950), so *ro* must lie between *a* and *Sd*. Localisation tests were therefore undertaken, using marker genes in this segment.

Table 2. *Phenotypes of progeny heterozygous for Bent, Tabby and Brindled or Mottled. The genotype of the male parent was in all cases + Ta +. The Tabby phenotype in female progeny listed as Ta means TaTa and + means Ta +.*

| Genotype of female parent | Sex of progeny | Type of exchange and phenotype of progeny | | | | | | | | Totals |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | None | | *Bn* | | *Ta* | | *Br* | | |
| | | *Bn Ta +* | *+ + Br* | *Bn + Br* | *+ Ta +* | *Bn + +* | *+ Ta Br* | *Bn Ta Br* | *+ + +* | |
| *Bn Ta +* / *+ + Br* | ♀♀ | 21 | 24 | 2 | 5 | 0 | 0 | 1 | 4 | 57 |
| | ♂♂ | 8 | 19 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 29 |
| | | *Bn + Br* | *+ Ta +* | *Bn Ta +* | *+ + Br* | *Bn Ta Br* | *+ + +* | *Bn + +* | *+ Ta Br* | |
| *Bn + Br* / *+ Ta +* | ♀♀ | 17 | 27 | 3 | 9 | 0 | 1[1] | 0 | 1 | 58 |
| | ♂♂ | 5 | 32 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 42 |

| | | None | | *Bn* | | *Ta* | | *Mo* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Bn Ta +* | *+ + Mo* | *Bn + Mo* | *+ Ta +* | *Bn + +* | *+ Ta Mo* | *Bn Ta Mo* | *+ + +* | |
| *Bn Ta +* / *+ + Mo* | ♀♀ | 11 | 7 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1[2] | 22 |
| | ♂♂ | 6 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| | | *Bn + Mo* | *+ Ta +* | *Bn Ta +* | *+ + Mo* | *Bn Ta Mo* | *+ + +* | *Bn + +* | *+ Ta Mo* | |
| *Bn + Mo* / *+ Ta +* | ♀♀ | 3 | 8 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 15 |
| | ♂♂ | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |

[1] proved genetically Bent.
[2] proved genetically non-Bent.

Table 3. *Phenotypes of progeny from 3-point backcross matings.*

| Genotype and sex of segregating parent | | Progeny | | | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *un we pa* | + + + | *un* + + | + *we pa* | *un* + *pa* | + *we* + | *un we* + | + + *pa* | |
| *un we pa* / + + + | ♀ | 289 | 305 | 25 | 33 | 0 | 0 | 13 | 9 | 674 |
| | | *un we ro* | + + + | *un* + + | + *we ro* | *un* + *ro* | + *we* + | *un we* + | + + *ro* | |
| *un we ro* / + + + | ♀ | 104 | 124 | 1 | 8 | 0 | 1 | 2 | 4 | 244 |
| | ♂ | 121 | 151 | 7 | 12 | 1 | 0 | 7 | 5 | 304 |

The relevant markers are *undulated* (*un*), *wellhaarigkeit* (*we*), and *pallid* (*pa*), and the approximate map-distances between them are

$$a - 5 - un - 10 - we - 3 - pa - 44 - Sd$$

(see Grüneberg 1952). It was clear from the recombination frequency of *ro* with *a* that *ro* must lie in the neighbourhood of *we* and *pa*. A stock of *un we pa*/*un we pa* mice was obtained through the kindness of Dr M. F. Lyon, and these were mated to *ro*/*ro* homozygotes. Multiple heterozygotes were then backcrossed thus —

$$\frac{un\ we\ pa\ +}{+\ +\ +\ ro} \times \frac{un\ we\ pa\ +}{un\ we\ pa\ +}$$

Progeny showing recombination between *we* and *pa* were tested for the presence of *ro*. All of twelve *we* +/*we pa* progeny were found to carry *ro*, and none of nine + *pa*/*we pa* progeny. Thus none of the twenty-one cross-overs between *we* and *pa* had separated *ro* from *pa*. This meant that *ro* must lie either between *we* and *pa* and very close to *pa*, or between *pa* and *Sd*.

Matings were next made of the type —

$$\frac{un\ we\ +\ ro}{+\ +\ pa\ +} \times \frac{un\ we\ +\ ro}{un\ we\ +\ ro}$$

and progeny showing recombination between *we* and *ro* were tested for the presence of *pa*. Of nine *we* +/*we ro* progeny, eight were found to carry *pa*, while one did not. Of nine + *ro*/*we ro* progeny, two carried *pa* and seven did not. Thus *pa* was separated from *ro* in three out of eighteen cross-overs known to have occurred between *we* and *ro*. This can be accounted for by single crossingover only if the order is *we* — *pa* — *ro*. This order is therefore established.

These tests of recombinants also show that the lengths of the *we* — *pa* and *pa* — *ro* segments are in the ratio of 15:3. If the *we* — *pa* segment is 3 units long, the *pa* — *ro* segment must be 0.6 units. The 5% fiducial limits of this estimate are 0.1 and 2.1 (Fisher and Yates 1943).

The backcross matings made for the localisation tests produced fairly large progenies from which the recombination frequencies between *un*, *we* and *pa* or *ro* can be estimated. These estimates may be of interest because of the sex-differences in recombination that have been reported in these segments (see Grüneberg 1952 and Owen 1953). The data are

given in table 3, and the estimates of recombination in table 4. The simultaneous classification of *we* and *ro* might have been expected to present difficulties, but no real difficulty was experienced, and the segregations give no indication of misclassification. All the single-factor segregations are satisfactory

Table 4. *Recombination frequencies estimated from the data in table 3. The fiducial limits of each estimate are shown in brackets; they are calculated from* Fisher *and* Yates *(1943) Table VIII$_1$, and refer to the 5% significance level.*

| Genotype and sex of segregating parent | | Recombination frequencies % (and 5 % fiducial limits) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *un – we* | *we – pa* | *we – ro* |
| $\frac{un\ we\ pa}{+\ +\ +}$ | ♀ | 8.6 (7.7—9.7) | 3.3 (2.7—4.0) | — |
| $\frac{un\ we\ ro}{+\ +\ +}$ | ♀ | 4.1 (2.0—7.4) | — | 2.9 (1.2—5.8) |
| | ♂ | 6.6 (5.4—8.6) | — | 4.3 (2.3—7.2) |
| Owen (1953) | ♀ | 7.4 (6.9—8.0) | 4.2 (3.8—4.6) | — |
| | ♂ | 4.5 (4.1—5.0) | 2.3 (2.0—2.6) | — |

with the exception of *un* which shows a significant deficiency of undulated phenotypes in the second type of mating, i.e. those with *ro*. The recombination frequencies in this material agree well in general with those quoted by Owen (1953), which are also shown in table 4. The chief point of difference is that in the present material recombination frequencies are higher in males than in females (though this is not significant), while in Owen's material it is the other way round.

## Summary.

The order of the totally sex-linked genes and the recombination frequencies in heterozygous females are —

$$Bn - 11\,\% - Ta - 4\,\% - \left\{ \begin{matrix} Br \\ Mo \end{matrix} \right\}$$

*Rough* (*ro*) is located in linkage Group V, between *pa* and *Sd* and very close to *pa*. Recombination frequency between *pa* and *ro* is about 0.6%.

## Zusammenfassung.

Die Reihenfolge der total geschlechtsgebundenen Gene und ihre Rekombinationshäufigkeit in heterozygoten Weibchen ist

$$Bn - 11\,\% - Ta - 4\,\% - \frac{Br}{Mo}$$

*Rough* (*ro*) liegt in Koppelungsgruppe V, zwischen *pa* und *Sd* und sehr dicht bei *pa*. Die Rekombinationshäufigkeit zwischen *pa* und *ro* ist ungefähr 0,6%.

## References.

Borger, R.: Order of genes in the fifth linkage group of the house mouse. Nature (Lond.) **166**, 697 (1950). — Carter, T. C., and D. S. Falconer: Stocks for detecting linkage in the mouse, and the theory of their design. J. Genet. **50**, 307—323 (1951). — Falconer, D. S.: A totally sex-linked gene in the house mouse. Nature (Lond.) **169**, 664—665 (1952). — Total sex-linkage in the house mouse. — Z. Vererbungslehre **85**, 210—219 (1953). — Falconer, D. S., and G. D. Snell: Two new hair mutants, rough and frizzy, in the house mouse

J. Hered. **43**, 53—57 (1952). — Fisher, R. A., and F. Yates: *Statistical Tables*, 2. Edit. Edinburgh 1943. — Fraser, A. S., S. Sobey and C. C. Spicer: Mottled, a sex-modified lethal in the house mouse. J. Genet. **51**, 217—221 (1953). — Garber, E. D.: A dominant, sex-linked mutation in the house mouse. Science (Lancaster, Pa.) **116**, 89 (1952a). — "Bent-tail", a dominant, sex-linked mutation in the mouse. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **38**, 876 to 879 (1952b). — Grüneberg, H.: *The Genetics of the Mouse*, 2. Edit. The Hague 1952. — Owen, A. R. G.: The analysis of multiple linkage data. Heredity (Lond.) **7**, 247—264 (1953).

Dr. D. S. Falconer, Institute of Animal Genetics, West Mains Road, Edinburgh 9, Scotland.

---

*Acknowledgements.* All the classifying and recording was done by Mr J. H. Isaacson to whom I am very-grateful for this assistance. I am indebted also to Dr. E. D. Garber for the gift of *Bent-tailed* mice.

---

Band 86 **Inhalt** 2. Heft

Seite

Gottschalk, W., Das Auftreten kettenförmiger Chromosomenverbände in der Meiosis verschiedener *Physalis*-Arten. Mit 9 Textabbildungen . . . . . 157

Belitz, H. J., Genetische Analyse spontaner und induzierter Mutationen des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* . . . . . 173

Bochnig, V., Genetische Untersuchungen zur DDT-Resistenz an *Drosophila melanogaster*. Mit 9 Textabbildungen . . . . . 185

Carter, T. C., A search for chromatid interference in the male house mouse. With 6 figures in the text . . . . . 210

Mechelke, F., und H. Stubbe, Studien an mutablen Genen. Mit 15 Textabbildungen . 224

Nasrat, G. E., W. D. Kaplan and C. Auerbach, A quantitative study of mustard gas induced chromosome breaks and re-arrangements in *Drosophila melanogaster*. With 3 figures in the text . . . . . 249

Falconer, D. S., Linkage in the mouse: The sex-linked genes and "Rough" . . . . . 263

**Fortschritte der Botanik**

Begründet von Fritz von Wettstein. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen und mit der Deutschen Botanischen Gesellschaft herausgegeben von Dr. **Ernst Gäumann**, Zürich, und Professor Dr. **Otto Renner**, München.

Fünfzehnter Band:

**Bericht über das Jahr 1952**

Mit 34 Abbildungen. IV, 549 Seiten Gr.-8°. 1954. DM 62.80

Inhaltsübersicht: **Morphologie: Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle.** Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — **Morphologie einschließlich Anatomie.** Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. (Folgt in Band XVI.) — **Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung.** Von Professor Dr. O. Jaag, Zürich. (Folgt in Band XVI.) — **Submikroskopische Morphologie.** Von Privatdozent Dr. K. Mühlethaler, Zürich. (Folgt in Band XVI.) — **Systemlehre und Pflanzengeographie: Systematik und Stammesgeschichte der Pilze.** Von Dozent Dr. H. Kern, Zürich. (Folgt in Band XVI.) — **Systematik der Spermatophyta.** Von Professor Dr. K. Suessenguth, München. — **Paläobotanik.** Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. — **Systematische und genetische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. — **Ökologische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim. (Folgt in Band XVI.) — **Ökologie.** Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.Münden. — **Physiologie des Stoffwechsels: Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensprozesse.** Von Professor Dr. W. Simonis, Hannover. — **Zellphysiologie und Protoplasmatik.** Von Professor Dr. H. J. Bogen, Marburg a. d. Lahn. — **Wasserumsatz und Stoffbewegungen.** Von Professor Dr. B. Huber, München. — **Mineralstoffwechsel.** Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). — **Stoffwechsel organischer Verbindungen I.** (Photosynthese). Von Professor Dr. A. Pirson, Marburg a. d. Lahn. (Folgt in Band XVI.) — **Stoffwechsel organischer Verbindungen II.** Von Professor Dr. K. Paech, Tübingen. — **Physiologie der Organbildung: Vererbung. a) Genetik der Mikroorganismen.** Von Professor Dr. H. Marquardt, Freiburg i. Br. (Folgt in Band XVI.) — **b) Genetik der Samenpflanzen.** Von Professor Dr. C. Harte, Köln-Riehl. — **Cytogenetik.** Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. (Folgt in Band XVI.) — **Wachstum und Bewegung.** Von Professor Dr. H. v. Guttenberg, Rostock. — **Entwicklungsphysiologie.** Von Professor Dr. A. Lang, Los Angeles (Calif.) — **Viren. a) Pflanzenpathogene Viren.** Von Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler, Braunschweig. — **b) Bakteriophagen.** Von Dr. W. Weidel, Tübingen. — **Sachverzeichnis.**

**SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG**

Hermann Braus

# Anatomie des Menschen

Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. Fortgeführt von **Curt Elze.**
In drei Bänden.
I. Band: **Bewegungsapparat.** Dritte Auflage. Mit 399 zum großen Teil farbigen Abbildungen. XI, 789 Seiten Gr.-8°. 1954. Ganzleinen DM 69.—

Inhaltsübersicht: **Einleitung.** Aufgabe der menschlichen Anatomie als Wissenschaft. — Wegleitung für das praktische Studium der Anatomie. — Die allgemeine Gestalt des Menschen. — **Bewegungsapparate.** Allgemeines. Bestimmung und Umgrenzung des Begriffs: Bewegungsapparate. Das Material des Bewegungsapparates und seine Verwendung beim Aufbau der Konstruktionsteile. Knochenverbindungen (allgemeine Bänder- und Gelenklehre). Die Skeletmuskeln und ihre Hilfsapparate (allgemeine Muskellehre). Allgemeine Muskelmechanik. — Spezielle Bewegungsapparate der dorsalen Rumpfwand: Rücken. Typus des Wirbels und seine Modifikationen. Verschiedenheiten der Wirbel im einzelnen. Die tiefen Rückenmuskeln als aktive Bewegungsfaktoren. Bänder und Gelenke zwischen den einzelnen Wirbeln und zwischen Wirbeln und Rippen als passive Bewegungsfaktoren. Die Wirbelsäule als Ganzes in Ruhe und Bewegung. — Spezielle Bewegungsapparate der ventrolateralen Rumpfwand: Brust, Bauch, Hals. Rippen und Brustbein als passive Bewegungsfaktoren. Die autochthone ventrolaterale Muskulatur des Rumpfes als aktiver Bewegungsfaktor. Die vordere Rumpfwand als Ganzes in Ruhe und Bewegung. — Spezielle Bewegungsapparate der oberen Extremität. Die Schulter und die zu ihr gehörigen Teile des Stammes (Brustschulterapparat). Die freie obere Gliedmaße (Arm und Hand). — Spezielle Bewegungsapparate der unteren Extremität. Becken und Hüfte. Die freie untere Gliedmaße (Bein und Fuß). — Spezielle Bewegungsapparate des Kopfes (und Kopfmuskeln des Halses). Der Schädel. Der Kauapparat. Der mimische Apparat. Kopf und Hals als Ganzes in Ruhe und Bewegung. — Sachverzeichnis für Text und Abbildungen.

Dieses Lehrbuch hat nun schon eine über dreißigjährige Geschichte. Obwohl von Braus als Torso hinterlassen, hat es den anatomischen Unterricht in Deutschland vom Tage seines Erscheinens an in einem solchen Maße beeinflußt, daß Ähnliches in der Tat von keinem anderen Lehrbuch seit Henle und Hyrtl gesagt werden kann... Das Buch hat seither wie ein Ferment den Unterricht und die Lehrbuchliteratur verändert.

„Ohne Zweifel wird das Werk erheblich zu der Änderung des anatomischen Unterrichts beitragen, die durch die starke Betonung des Funktionellen in der heutigen Medizin gefordert wird", schrieb der Berliner Internist W. His. Zwanzig Jahre nach seinem Erscheinen konnte v. Lanz (1941), der sich in seiner „Praktischen Anatomie" ausdrücklich als Schüler von Rückert, Eisler und Mollier bekennt, schließlich schreiben: „Das Werk ... stellt eine umstürzende Tat dar. Aufs heftigste bekämpft und befehdet, wie jeder echte Revolutionär, aber auch schon mit Beginn seines Erscheinens als Bahnbrecher für die neue Zielsetzung im anatomischen Unterricht anerkannt, hat es sich im Laufe der zwei Jahrzehnte (seit) seiner Entstehung unumstritten durchgesetzt und ist heutigen Tages als grundlegendes Unterrichtsbuch für jeden werdenden Arzt nicht mehr aus unserem anatomischen Schrifttum wegzudenken."

Braus hat noch einmal die seit Johannes Müller auseinanderstrebenden Fächer Zoologie, Anatomie, Physiologie und Pathologie zwar nicht in einem Lehramt, aber im Geist seines Unterrichts vereinigt. Dieser Braussche Unterricht, dokumentiert in seinem Lehrbuch, gewann der Anatomie die verlorengegangene Beziehung zur Ganzheit des Lebendigen zurück, in dessen Mittelpunkt der Mensch steht, und wies ihr neue Aufgaben zu. In diesem Sinne ist Hermann Braus einer der Begründer der modernen Anatomie.

*Aus „Wandlungen im anatomischen Unterricht seit Hermann Braus" von Robert Herrlinger in „Sudhoffs Archiv für Geschichte der Medizin und der Naturwissenschaften", 37. Band, 1953*

In Vorbereitung:
II. Band: **Eingeweide (einschl. periphere Leitungsbahnen I).**
Dritte Auflage.
III. Band: **Periphere Leitungsbahnen II.** Vegetatives Nervensystem. Zentrales Nervensystem. Haut und Sinnesorgane.
Zweite Auflage.

**SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG**

**Diesem Heft liegen drei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, bei.**

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Springer-Verlag, Berlin • Göttingen • Heidelberg.
Printed in Germany.